Aus dem Pharmakologischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Hans Herken

STÖRUNGEN DES ELEKTROLYTHAUSHALTS UND DER NIERENFUNKTION DURCH FOLSÄURE UND ANDERE PTERIDINE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

1970

vorgelegt von
Peter Propping
aus Berlin

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr.med. Hans H e r k e n

Störungen des Elektrolythaushalts und der Nierenfunktion durch Folsäure und andere Pteridine

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter Propping
aus Berlin

Dekan:	Professor Dr. med. Herbert L a x
Referent:	Professor Dr. med. Hans H e r k e n
Korreferent:	Professor Dr. med. Klaus H i e r h o l z e r

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 21. April 1970

Gliederung

Einleitung

I. Methodik

A. Bestimmung der Nierengewichte

B. Wasser- und Elektrolyt-Gehalt des Gewebes

1. Prinzip der Bestimmung des Extrazellulärvolumens
2. Gewinnung des Untersuchungsmaterials
3. Gesamt-Wasser-Gehalt
4. Extrazellulärer Wasseranteil
5. Elektrolyte in Plasma und Extrazellulärflüssigkeit
6. Elektrolyte im Gewebe

C. Infusionsversuche

1. Clearance-Untersuchungen
   a) Glomeruläre Filtration
   b) Renaler Plasmafluß
2. Elektrolyt-Ausscheidung

D. Urinkonzentration

E. Statistische Auswertung

II. Ergebnisse

A. Nierengewichte

1. Folsäure und ihre Bruchstücke
2. Weitere Pteridinderivate
3. Andere Substanzen

B. Funktionelle Untersuchungen nach Xanthopterin

C. Wasser- und Elektrolyt-Gehalt des Gewebes

1. Leber
2. Skeletmuskulatur

D. Elektrolyt-Ausscheidung unter Infusionsbedingungen

E. Elektrolyt-Ausscheidung nach Diuretika

1. Furosemid
2. Chlorothiazid
3. Amilorid
4. Triamteren

F. Urinkonzentration

III. Diskussion

A. Nierengewichte

B. Funktionelle Untersuchungen nach Xanthopterin

C. Elektrolyt-Gehalt des Gewebes

D. Elektrolyt-Ausscheidung nach Diuretika

E. Urinkonzentrationsvermögen

Zusammenfassung

Literaturverzeichnis

Einleitung

1954 beschrieb HADDOW nach Gabe von Xanthopterin und 2,4,5-Triamino-6-styryl-pyrimidin starke Nierenvergrößerungen bei Ratten und anderen Versuchstieren. Er erwog als Ursache eine Hemmung der Xanthinoxidase oder Mikrotraumen.

THRELFALL, TAYLOR und BUCK (1966) und THRELFALL, TAYLOR, MANDEL und RAMUZ (1967) fanden nach einmaliger parenteraler Injektion von 250 mg/kg Folsäure eine starke Vermehrung des Feucht- und Trockengewichtes der Nieren, einen vermehrten Mitose-Index, sowie einen der Gewichtsvermehrung parallel verlaufenden Anstieg der RNS-Synthese, der 6 Stunden nach Gabe der Substanz einsetzte. Der RNS- und DNS-Gehalt sind nach ihren Angaben 4 Tage nach Injektion maximal erhöht. In einer neueren Veröffentlichung (1968) vermuteten dieselben Autoren eine unspezifische Nierenvergrößerung durch Folsäure und verglichen die Wirkung mit der von Schwermetallsalzen, wie Uranylnitrat, oder einer unilateralen Nephrektomie. Sie beschrieben eine mit histologischen und spektrophotometrischen Methoden gefundene Retention von Folsäure, die zu einer partiellen Tubulus-Blockade führen soll. Diese Blockade interpretierten sie als funktionellen Reiz ("functional load") auf die verbleibenden intakten Tubuli.

Die Erhöhung des DNS-Gehaltes nach Folsäuregabe wurde auch durch BASERGA, THATCHER und MARZI (1968) an der Maus bestätigt.

In funktionellen Untersuchungen wiesen BRADE, HERKEN und MERKER (1968) eine Einschränkung der Inulin- und PAH-Clearancen 4 Tage nach Injektion von 500 mg/kg Folsäure nach, die auch 10 Tage später noch vorhanden war. Elektronenoptisch beschrieben sie Zeichen tubulärer Schädigungen, besonders im proximalen Teil des Nephron, fanden die Glomeruli jedoch unverändert. Mit ihren morphologischen und funktionellen Befunden wiesen sie eine Schädigung des Nierenepithels mit darauffolgender

Regeneration nach. Die gleichen Autoren beschrieben 1969 eine gering vermehrte Kalium-Ausscheidung der 4 Tage vorher mit Folsäure vorbehandelten Ratten.

Von diesen Ergebnissen ausgehend, soll in der vorliegenden Arbeit geprüft werden, ob die Behandlung mit hohen Dosen Folsäure auch zu Elektrolytveränderungen im Organismus führt. Mit Hilfe von Diuretika soll außerdem untersucht werden, inwieweit Störungen im glomerulären und tubulären Apparat der Niere lokalisiert werden können.

Darüberhinaus wird im ersten Teil der Arbeit versucht zu klären, welcher Bestandteil des Folsäure-Moleküls für die nierenhypertrophische Wirkung verantwortlich ist, bzw. ob Pteridine allgemein den genannten Effekt auf Nierengröße und -funktion haben.

I. Methodik

Als Versuchstiere verwendeten wir männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht zwischen 140 und 160 g. Vor den Experimenten und nach Folsäure-Injektion wurden die Tiere in Sammelkäfigen gehalten. Sie erhielten Trockenfutter Altromin R und Leitungswasser ad libitum, das ihnen zu Beginn der funktionellen Untersuchungen entzogen wurde. Alle Untersuchungen nahmen wir 4 Tage nach intravenöser Applikation von 500 mg/kg Folsäure oder anderer Substanzen vor.

A. Bestimmung der Nierengewichte

Zur Ermittlung der Nierengewichte verabreichten wir die jeweilige Substanz 4 Tage vorher parenteral, da zu diesem Zeitpunkt der Effekt auf die Nieren am stärksten ausgeprägt ist (THRELFALL, TAYLOR, BUCK 1966 a,b, 1968, DRESCHER 1969).

500 mg Folsäure (Merck A.G.) wurden in 10 ml 0,3 m $NaHCO_3$ gelöst, ebenso der entsprechende Anteil 4-Amino-benzoyl-glutaminsäure (Fluka A.G.) und L-Glutaminsäure und in Äthernarkose in die Schwanzvene injiziert.

Die anderen bei physiologischem pH-Wert unlöslichen Pteridinderivate[x)] einschließlich des Xanthopterin (EGA-Chemie) sowie 2,4,5-Triamino-6-styryl-pyrimidin[x)] suspendierten wir in Erdnußöl und injizierten es intraperitoneal.

$HgCl_2$ lösten wir in 0,9 %iger NaCl und injizierten es in die Glutealmuskulatur.

Den Kontrolltieren verabreichten wir das jeweilige Lösungs- bzw. Suspensionsmittel, von denen jedoch

---

x) Wir danken der Firma C.H. Boehringer, Ingelheim, für die Überlassung der Substanzen.

keines einen Einfluß auf die Nierengewichte hatte. 4 Tage später wurden die Ratten durch Dekapitation getötet, die Nieren dekapsuliert, zwischen Filterpapier kurz abgetupft, zur besseren Trocknung median halbiert und sofort in vortarierten Gläschen auf einer Mettler-Analysenwaage gewogen.

Um einen Überblick über die Menge an neugebildetem Gewebe zu bekommen, trockneten wir die Nieren und bestimmten ihr wasserfreies Gewicht. Dazu stellten wir sie bei 90° C bis zur Gewichtskonstanz, die nach 4 Tagen erreicht war, in den Trockenschrank, zum Abkühlen 1-2 Stunden in den Exsikkator und ermittelten auf der gleichen Waage das Trockengewicht.

B. Wasser- und Elektrolyt-Gehalt des Gewebes

Um den intrazellulären Elektrolyt-Gehalt bzw. die Elektrolyt-Konzentration angeben zu können, muß vorher die Verteilung des Wassers in einem Organ auf das extra- und intrazelluläre Kompartiment bekannt sein. Daher geht der Messung der Elektrolyt-Konzentrationen (5-6) die Ermittlung des extra- und intrazellulären Wasseranteils an der Gesamtflüssigkeit voraus (1-4).

1. Prinzip der Bestimmung des Extrazellulärvolumens

15 Minuten nach Injektion einer 14 %igen Saccharose-Lösung hat sich der Zucker gleichmäßig in der Extrazellulärflüssigkeit verteilt (DULCE, GÜNTHER 1960), ohne in den intrazellulären Raum einzudringen. Damit ist die Saccharose zur Bestimmung des Extrazellulärvolumens geeignet. Zur Messung der Saccharose-Konzentration benutzten wir die von WAHLER (1956) für Inulin angegebene und von DULCE und GÜNTHER (1960) auch für Saccharose verwendete Methode, die auf einer für Ketosen typischen Resorcin-Fructose-Reaktion beruht.

Nach vorhergehender alkalischer Autoxidation störender Oligosaccharide und anschließender saurer Hydrolyse des

alkalistabilen Saccharids zu Glucose und Fructose, wird die Farbreaktion mit der durch konzentrierte Salzsäure schnell verlaufenden Hydrolyse gekoppelt. Zur Vermeidung größerer Verdünnungen kombinierten wir die Enteiweißung durch Zinkhydroxyd mit der Neutralisation des Alkaliaufschlusses. Ein Zusatz von Eisen-III-Chlorid verbessert die Farbbildung im Bereich geringerer Saccharose-Konzentrationen. Genaue Einhaltung der Reaktionszeit und Temperatur sind wichtig.

2. Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Um die Saccharose-Plasma- und Saccharose-Gewebe-Leerwerte durch Senkung des Kohlenhydratanteils zu erniedrigen, entzogen wir den Ratten am Abend vor den Versuchen das Futter. Das Extrazellulärvolumen sowie die Gewebe-Elektrolyte wurden in Leber und Skeletmuskulatur bestimmt. 15 Minuten vor der Tötung injizierten wir den Tieren 1 ml/100 g Körpergewicht einer 14 %igen Saccharose-Lösung in die Schwanzvene. Eine Gabe dieser Flüssigkeitsmenge beeinflußt den Wasser-Gehalt des Gewebes nicht (DULCE, GÜNTHER, 1960). Das Blut der durch Dekapitation getöteten Ratten fingen wir über Trichter in Zentrifugengläsern auf, die zur Vermeidung einer Hämolyse mit einem Silikonfilm versehen und zur Gerinnungshemmung mit Calciumheparinat[x)] besprüht waren. Dann zentrifugierten wir das Blut bei 3000 Umdrehungen/min zehn Minuten lang.

Sofort nach der Tötung präparierten wir die Oberschenkelmuskulatur, befreiten Muskel und Leber von Fett- und Fasciengewebe und tupften Blutreste ab. Beiden Organen entnahmen wir je 2 Gewebestückchen von etwa 300 mg, die wir in vortarierten Bechergläschen zur Gesamtwassermessung und in vortarierten Zentrifugengläsern zur Bestimmung des Extrazellulärvolumens auf

---

x) Wir danken der Firma Hoffmann-La Roche, Grenzach, für die Überlassung des Calciumheparinats.

der Analysenwaage abwogen. Die Rohrzucker-Leerwerte bestimmten wir an Ratten, die keine Saccharose erhalten hatten.

3. Gesamt-Wasser-Gehalt

Die Leber- und Muskelproben in den Bechergläsern wurden 4 Tage lang bei 90° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, das Trockengewicht bestimmt, und der Flüssigkeitsanteil aus der Differenz zum Feuchtgewicht errechnet. Einen Teil dieser Trockensubstanz verwendeten wir dann zur Ermittlung der Elektrolyte im Gewebe (s. unten).

4. Extrazellulärer Wasseranteil

Reagenzien:

0,75 n NaOH	3 Volumenteile sollen 5 Volumenteile des Zinkreagenz neutralisieren
Zinkreagenz	0,28 n $ZnSO_4$ in 0,25 n HCl
Resorcinreagenz	0,06 m Thioharnstoff und 0,002 m Resorcin in konzentrierter = 10 n Salzsäure. 0,1 n $FeCl_3$ in konzentrierter Salzsäure. Wir setzten die Thioharnstoff-Lösung an, gaben kurz vor Gebrauch Resorcin zu, wodurch eine wasserklare und lichtempfindliche Lösung entsteht, und füllten 0,1 ml $FeCl_3$-Lösung ad 100 ml Thioharnstoff-Resorcin auf.

Jeweils etwa 300 mg Leber und Muskel sowie 0,2 ml Plasma wurden in je ein bereits mit 1,5 ml 0,75 n NaOH gefülltes Zentrifugenglas mit Schliffstopfen gebracht. Die verschlossenen Gläser wurden im Wasserbad bei 100° C so lange gekocht, bis sich das Gewebe ganz aufgelöst hatte. Das war nach etwa 1 Stunde

geschehen. Nach rascher Abkühlung auf Zimmertemperatur gaben wir zur Neutralisation und gleichzeitigen Enteiweißung 2,5 ml Zinkreagenz dazu, schüttelten die Gläser und ließen sie für 30 Minuten stehen. Danach wurden sie zentrifugiert und 2 ml der überstehenden Flüssigkeit mit 4 ml Thioharnstoff-Resorcin-Eisenchlorid-Reagenz versetzt. Wir erhitzten die Gläser dann für 9 Minuten bei 78° C im Wasserbad und kühlten sie darauf in kaltem Wasser sofort auf 20° C ab. Dadurch wurde die Saccharose hydrolysiert, und die entstehende Fructose bildete mit Resorcin einen braunroten Farbstoff, dessen Extinktion bei einer Wellenlänge von 515 nm innerhalb der nächsten 30 Minuten in einem Beckman-Photometer, Modell DB, gemessen wurde.

Zur Aufstellung von Eichkurven stellten wir solche Saccharose-Lösungen her, daß nach Zugabe von 1,5 ml 0,75 n NaOH und 2,5 ml Zinkreagenz im Überstand eine Konzentration von 50 - 200 µg/ml Saccharose vorlag. In diesem Bereich verläuft die Extinktion linear.

Die Saccharose-Konzentration der Gewebe- und Plasmaproben wurde von der Eichkurve abgelesen und unter Berücksichtigung der durch die verschieden schweren Gewebepartikel unterschiedlichen Verdünnung umgerechnet. Nach Abzug der Leerwerte konnten wir die Saccharose-Konzentration in µg/g Feuchtgewicht (FG), bzw. in µg/ml Plasma angeben. Der Quotient aus der Saccharose-Konzentration im Gewebe (Dimension µg/g FG) und der Saccharose-Konzentration im Plasma (Dimension µg/ml) ergibt die Extrazellulärflüssigkeit in ml/g FG.

5. Elektrolyte in Plasma und Extrazellulärflüssigkeit

Zur Enteiweißung und gleichzeitigen Verdünnung versetzten wir 0,5 ml Plasma mit 9,5 ml 20 %iger Trichloressigsäure und zentrifugierten 10 Minuten lang bei 3000 Umdrehungen/min. Bei dieser Verdünnung läßt sich die Kalium-Konzentration messen; für die Natrium-Konzentration verdünnten wir die Lösung noch einmal

1 : 7,5 , so daß die Endkonzentration 1 : 150 beträgt. Die Elektrolyte wurden in einem Flammenphotometer der Firma Beckman, Modell DU, für Kalium bei einer Wellenlänge von 769 nm, für Natrium von 589 nm bestimmt. Die abgelesenen Transmissionswerte konnten wir anhand von Eichlösungen, deren Transmission jedes Mal mitbestimmt wurde, in /uval/ml umrechnen.

Für die Kalium-Eichreihen stellten wir Lösungen mit einer Konzentratiom von 0,1 - 0,5 /uval/ml, für die des Natrium von 0,5 - 5,0 /uval/ml her. Die Kalium-Eichreihe verläuft in diesem Bereich linear, ebenfalls die Natrium-Eichreihe in dem von uns benutzten Meßbereich niedriger Konzentrationen.

Aus der Elektrolyt-Konzentration des Plasmas läßt sich auf die der extrazellulären Flüssigkeit schließen. Da die interstitielle Flüssigkeit praktisch eiweißfrei ist, muß die Plasma-Elektrolyt-Konzentration durch Multiplikation mit dem Donnanfaktor korrigiert werden, um zur Konzentration der Elektrolyte in der Extrazellulärflüssigkeit zu gelangen. Der Faktor beträgt für Natrium und Kalium 0,95.

6. Elektrolyte im Gewebe

Zur Elektrolyt-Bestimmung im Gewebe verwendeten wir etwa 35 mg Muskel-Trockensubstanz bzw. 50 mg Leber-Trockensubstanz, die wir mit je 1 ml 65 %iger Salpetersäure (analysenrein) im Reagenzglas während 24 Stunden im Trockenschrank bei 70° C veraschten. Der Vorgang muß wegen der entstehenden nitrosen Gase unter dem Abzug geschehen. Um die Menge an Elektrolyten, die beim Veraschen durch die Säurebehandlung aus dem Reagenzglas herausgelöst wird, klein zu halten, beließen wir die Gläser bereits vorher für 24 Stunden mit Salpetersäure im Trockenschrank. Außerdem liefen neben den Versuchsansätzen immer Glasleerwerte mit, deren Elektrolyt-Konzentration wir bestimmten und bei

der Aufstellung der Eichkurven berücksichtigten.

Die Lösung füllten wir mit destilliertem Wasser ad 25 ml auf und bestimmten darin die Natrium-Konzentration flammenphotometrisch. Da Kalium im Gewebe in wesentlich größeren Mengen vorliegt, ermittelten wir die Kalium-Konzentration in der 5-fachen Verdünnung.

Die Natrium-Eichlösungen enthielten Konzentrationen von 0,05 bis 0,3 /uval/ml, die für Kalium von 0,1 bis 0,5 /uval/ml. In diesem Bereich verlaufen beide Kurven linear. Außerdem setzten wir den Eichlösungen solche Mengen HNO_3 zu, daß in der Eichlösung die gleiche Säure-Konzentration wie im Versuchsansatz vorlag.

Die gemessenen Konzentrationen rechneten wir unter Berücksichtigung der Verdünnungen, des Trockengewichtsanteils und der veraschten Gewebemengen um und gaben den Elektrolyt-Gehalt in /uval/g Feuchtgewicht (FG) an. Da aus der Bestimmung des Gesamtwassers und des Extrazellulärvolumens die entsprechenden Flüssigkeitsmengen bekannt waren, konnte durch Differenzbildung auch der intrazelluläre Elektrolyt-Gehalt in /uval/g FG angegeben werden.

Aus der Differenz des Gesamt-Wasser/g FG und der Extrazellulärflüssigkeit/g FG, dem Saccharoseraum, erhält man die Intrazellulärflüssigkeit/g FG. Um auch die intrazelluläre Elektrolyt-Konzentration in /uval/ml angeben zu können, bildet man den Quotienten aus dem intrazellulären Elektrolyt-Gehalt und der Intrazellulärflüssigkeit/g FG.

C. Infusionsversuche

Diese Versuche führten wir in der bei HERKEN, SENFT, SCHWARZ und MERKER (1963) beschriebenen Apparatur durch, wobei den Ratten Infusionslösung in eine Schwanzvene infundiert wird. Die Tiere sitzen dabei

in ventilierten, temperatur- und feuchtigkeitskonstanten Plexiglaskäfigen, die so konstruiert sind, daß Stuhl und Urin getrennt aufgefangen werden können. Bei allen Versuchen infundierten wir der einzelnen Ratte ein Volumen von 5 ml/Stunde.

Die Methode gestattet, über längere Zeit eine definierte Flüssigkeitsmenge bekannter Zusammensetzung zuzuführen, Bilanzen aufzustellen und durch Konstanz der Versuchsbedingungen gut reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen.

1. Clearance-Untersuchungen

Bei allen Clearance-Untersuchungen infundierten wir den Ratten eine Lösung, die zu 4,3 % Glucose und zu 0,2 % NaCl enthielt. Mit den eigentlichen Clearance-Untersuchungen begannen wir 7 Stunden nach Infusionsbeginn, da insbesondere die mit Folsäure vorbehandelten Ratten erst nach dieser Zeit einen "steady state" erreicht hatten.

a) Glomeruläre Filtration: Zur Bestimmung der glomerulären Filtration verwendeten wir die Inulin-Clearance in der bei HERKEN, SENFT, ZEMISCH (1964) beschriebenen Form. Inulin erfaßten wir colorimetrisch mit der bei FÜHR, KACZMARCZYK und KRÜTTGEN (1955) beschriebenen Methode. Das Prinzip besteht darin, daß Anthron mit Hexosen und hexosehaltigen Polysacchariden einen blaugrünen Farbstoff bildet. Anthron gibt bei 55° C und 10-minütiger Reaktionsdauer einen 50 mal stärkeren Farbton als Glucose, wodurch eine Unterscheidung möglich ist.

Reagenzien:

Inulinlösung	2 g in 100 ml Wasser
Anthronreagenz	0,2 g in 100 ml 2:5 verdünnter Schwefelsäure (2 Teile destilliertes Wasser und 5 Teile konzentrierte H_2SO_4)
Trichloressigsäure	4 g in 100 ml Wasser

Vorgehen: Wir injizierten je 7,5 ml/kg einer 2 %igen Inulinlösung intraperitoneal und subcutan. Nach 15 Minuten ist das Polysaccharid gleichmäßig verteilt, und wir begannen mit der Clearance-Periode, die ebenfalls 15 Minuten dauerte. Dann wurde die Harnröhre mit einer Kocherklemme abgeklemmt, das Tier dekapitiert und das Blut in heparinisierten Zentrifugengläsern aufgefangen. Den Blaseninhalt fügten wir dem Urin hinzu, um die ausgeschiedene Inulinmenge möglichst quantitativ zu erfassen, und füllten ihn mit aqua dest. ad 25 ml auf. Wir zentrifugierten das Blut 10 Minuten lang bei 3000 Umdrehungen/min und enteiweißten 0,5 ml Serum mit 4,5 ml 4 %iger Trichloressigsäure. Der auf 25 ml aufgefüllte Urin wurde entsprechend verdünnt. Dann überschichteten wir 3 ml Anthron-Reagenz mit 0,3 ml des Serumüberstandes bzw. Urins, schüttelten um und erwärmten genau 10 Minuten lang bei 55° C im Wasserbad. Nach raschem Abkühlen in Eiswasser bestimmten wir die Extinktion des blaugrünen Farbstoffes unter Berücksichtigung der Plasma- und Urin-Leerwerte bei 625 nm im Beckman-Photometer, Modell DB.

Man erhält die glomeruläre Filtration nach MAYRS und WATT (1922) als Produkt der Inulin-Konzentration des Urins und dem Urin-Volumen, dividiert durch die Inulin-Konzentration des Plasmas: $GFR = \frac{U \times V}{P}$.

Wir bezogen den Wert auf Kilogramm und Minute. Da die Inulin-Extinktion der Konzentration direkt proportional ist, sind die Bedingungen des Lambert-Beer'schen Gesetzes erfüllt, und man kann unter Berücksichtigung der Plasma- und Urin-Leerwerte die vom Photometer abgelesenen Werte direkt in die Gleichung einsetzen.

b) Renaler Plasma-Fluß (RPF): Als Maß für den renalen Plasma-Fluß benutzten wir die p-Amino-hippursäure-Clearance (PAH). Die Clearance führten wir in der bei PETERS (1959) beschriebenen Form durch und bestimmten

p-Amino-hippursäure nach dem Verfahren von BRATTON und MARSHALL (1939). Das Prinzip der PAH-Bestimmung besteht in einer Diazotierung der p-Amino-Gruppe mit $NaNO_2$ und nach Zerstörung des verbleibenden Nitrits durch Ammoniumsulfamat in einer Koppelung mit N-(1-naphthyl-) aethylen-diamin-dihydrochlorid zu einem roten Farbstoff.

Reagenzien:

Na-PAH-Lösung	0,6 % in 2 %iger Na_2SO_4-Lösung
Trichloressigsäure	4 %
Ammoniumsulfamat	0,5 %
$NaNO_2$	0,1 %
N-(1-naphthyl-) aethylen-diamin dihydrochlorid (NNE)	0,1 %

Vorgehen: Wir injizierten 15 ml/kg der PAH-Lösung subcutan und begannen nach 10-minütiger Verteilungszeit mit der Clearance-Periode, die auch 10 Minuten dauerte. Die Tötung der Tiere und die Behandlung des Blutes bis zur Enteiweißung führten wir wie bei der Inulin-Clearance durch. Dann wurden 0,5 ml des enteiweißten Plasmas bzw. 0,5 ml des auf 25 ml aufgefüllten Urins mit 2,5 ml 4 %iger Trichloressigsäure versetzt und in 4-minütigem Abstand 0,3 ml $NaNO_2$-, 0,3 ml Ammoniumsulfamat- und 1,5 ml NNE-Lösung zugegeben. Nach weiteren 15 Minuten bestimmten wir den entstandenen roten Farbstoff bei 540 nm im Beckman-Photometer, Modell DB. Wir bezogen den renalen Plasma-Fluß ebenfalls auf Kilogramm und Minute und gingen auch sonst wie bei der Berechnung der Inulin-Clearance vor.

2. Elektrolyt-Ausscheidung

Zur Aufstellung der Elektrolyt-Bilanzen und zur Prüfung der Wirksamkeit mehrerer Diuretika bei Folsäure-vorbehandelten Tieren fingen wir den Urin quantitativ auf, verdünnten ihn 1:100 und bestimmten im oben

genannten Flammenphotometer unter Verwendung entsprechender Eichlösungen die Natrium- und Kalium-Ausscheidung. Bei allen Versuchen infundierten wir eine Lösung, die zu 4,3 % Glucose und zu 0,2 % NaCl enthielt. Die Diuretika verabreichten wir 7 Stunden nach Beginn der Infusion. Furosemid (Lasix^{R}, Hoechst) und Chlorothiazid (Diuril^{R}, Merck, Sharp and Dohme) applizierten wir intravenös, Triamteren (Boehringer, Ingelheim) als Gummi-arabicum-Suspension oral und Amilorid (Merck, Sharp and Dohme) intraperitoneal.

D. Urinkonzentration

Um die Fähigkeit zur Konzentration des Harns der mit Folsäure vorbehandelten Ratten zu prüfen, ließen wir sie in den oben beschriebenen Plexiglaskäfigen für 22 Stunden dursten und bestimmten die Dichte des in der 7. bis 22. Stunde nach Beginn des Versuchs produzierten Urins. Dazu filtrierten wir den Harn und ermittelten das Gewicht eines Milliliters mit Hilfe eines geeichten Pyknometers auf einer Mettler-Analysenwaage. Die Dichte gaben wir in der Dimension g/ml an.

E. Statistische Auswertung

Bei der Auswertung der Versuche gaben wir die Zahl der Tiere, das arithmetische Mittel und die mittlere Abweichung des Mittelwertes an, die wir nach der Gleichung

$$\Delta M = \sqrt{\frac{(\bar{x} - x)^2}{n(n-1)}}$$

berechneten ($\bar{x}$ = arithmetische Mittel, x = Einzelwert, n = Zahl der Tiere, ΔM = mittlere Abweichung des Mittelwertes). Die statistische Sicherung der Ergebnisse nahmen wir nach dem von PÄTAU (1943) angegebenen Verfahren vor. Dabei betrachteten wir die Differenz zweier Mittelwerte als statistisch signifikant,

wenn sich die von den Verteilungskurven eingeschlossenen Flächen - bei einer Gesamtfläche von jeweils 1 - um weniger als 0,05 überlappten, also $p \leq 0{,}05$ ist.

II. Ergebnisse

A. Nierengewichte

1. Folsäure und ihre Bruchstücke

Eine intravenöse Injektion von 500 mg/kg = 1,13 mmol/kg Folsäure erzeugte innerhalb von 4 Tagen eine signifikante Vermehrung des Feuchtgewichts beider Nieren um 110 %, des Trockengewichts um 61 %. Verabreichten wir den Ratten nur 100 mg/kg = 0,23 mmol/kg Folsäure, dann erhöhte sich das Gewicht der feuchten Nieren um 16 %, das der getrockneten nichtsignifikant um 7 %. Bei Verteilung der Gesamtdosis von 500 mg/kg auf 5 gleiche Dosen zu je 100 mg in 9-stündigem Abstand machte die Feuchtgewichtsvermehrung 54 %, die des Trockengewichts 17 % aus. Beide Zunahmen waren signifikant.

Wir injizierten dann jeweils die gleiche molare Menge der drei Folsäure-Bruchstücke, die 500 mg/kg Folsäure entspricht, 4 Tage vor Entnahme der Nieren (Abb. 1). Intravenöse Gabe von 301,6 mg(=1,13 mmol)/kg 4-Amino-benzoyl-glutaminsäure und 166,7 mg (=1,13 mmol)/kg L-Glutaminsäure hatten keinen Einfluß auf das Nierengewicht; auch 10 Tage später beobachteten wir keine Veränderungen. Mit intraperitonealer Injektion von 183,7 mg(=1,13 mmol)/kg 2-Amino-4-hydroxy-pteridin erzielten wir jedoch eine signifikante Vergrößerung der Nieren um 65 % im feuchten und um 20 % im getrockneten Zustand.

2. Weitere Pteridinderivate

Um zu ermitteln, ob andere Pteridinderivate den gleichen Effekt auf das Nierengewicht haben, verabreichten wir den Ratten 200 mg/kg Xanthopterin intraperitoneal, was mit 1,17 mmol/kg praktisch der zuerst genannten Folsäuredosis entspricht, und fanden eine

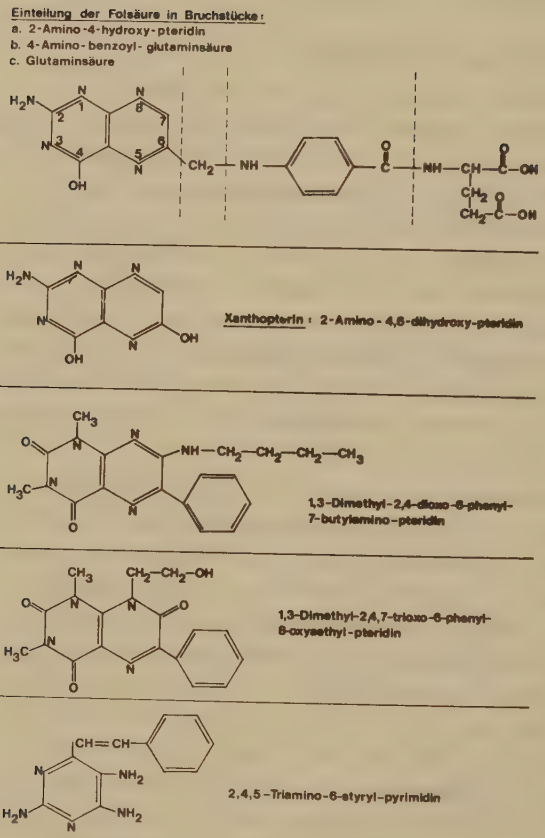

Abbildung 1

Strukturformeln von Substanzen, die auf ihren nierenvergrößernden Effekt geprüft wurden.

	n	Feuchtgewicht (mg)	Trockengewicht (mg)
Kontrollen	6	1220,37 ± 28,01	281,41 ± 7,13
500 mg = 1,13 mmol/kg Folsäure i.v.	5	2564,40 ± 117,64 $p < 0,0002$	452,86 ± 13,90 $p < 0,0002$
183,7 mg = 1,13 mmol/kg 2-Amino-4-hydroxy-pteridin i.p.	6	2020,41 ± 127,30 $p < 0,0002$	336,39 ± 12,75 $p < 0,005$
301,6 mg = 1,13 mmol/kg 4-Amino-benzoyl-glutaminsäure i.v.	5	1171,93 ± 31,18	271,12 ± 7,37
166,7 mg = 1,13 mmol/kg L-Glutaminsäure i.v.	5	1242,52 ± 41,93	281,69 ± 6,76
100 mg = 0,23 mmol/kg Folsäure i.v.	5	1415,94 ± 51,85 $p < 0,01$	299,68 ± 6,81
5 x 100 mg/kg Folsäure i.v. in 9-stündigem Abstand	8	1876,24 ± 145,67 $p < 0,0002$	329,65 ± 17,42 $p < 0,03$

Tabelle 1

Veränderungen des Feucht- und Trockengewichts der Nieren 4 Tage nach Injektion der Verbindung.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes

	n	Feuchtgewicht (mg))	Trockengewicht (mg)
Kontrollen	6	1220,37 ± 28,01	281,41 ± 7,13
50,0 mg = 0,28 mmol/kg Xanthopterin i.p.	6	1948,19 ± 35,79 p <0,0002	341,12 ± 4,08 p <0,0002
200 mg = 1,17 mmol/kg Xanthopterin i.p.	4	2368,98 ± 84,11 p <0,0002	359,86 ± 13,23 p <0,0002
371,8 mg = 1,13 mmol/kg 1,3-Dimethyl-2,4,7-trioxo-6-phenyl-8-oxy-aethyl-pteridin i.p.	4	1118,66 ± 47,15	257,85 ± 9,96
377,4 mg = 1,13 mmol/kg 1,3-Dimethyl-2,4-dioxo-6-phenyl-7-butylamino-pteridin i.p.	4	1239,48 ± 42,47	273,71 ± 6,13
1,5 mg/kg $HgCl_2$ i.m.	3	1442,90 ± 63,48 p < 0,02	311,67 ± 9,8 p <0,05
64,3 mg = 0,28 mmol/kg 2,4,5-Triamino-6-styryl-pyrimidin i.p.	4	2827,72 ±219,75 p < 0,0002	478,97 ± 33,42 p < 0,0005

Tabelle 2

Veränderungen des Feucht- und Trockengewichts der Nieren 4 Tage nach Injektion der Verbindung.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes

signifikante Vermehrung des Feuchtgewichts um 94 %, des Trockengewichts um 28 %. 1/4 der Dosis erzeugte nach 4 Tagen immer noch um 60 % schwerere feuchte und um 21 % schwerere getrocknete Nieren. Auch diese Zunahmen waren signifikant.

Wir injizierten den Tieren außerdem je 1,13 mmol/kg 1,3-Dimethyl-2,4,7-trioxo-6-phenyl-8-oxyaethyl-pteridin und 1,3-Dimethyl-2,4-dioxo-6-phenyl-7-butylamino-pteridin, fanden 4 Tage später jedoch keinen Einfluß auf das Nierengewicht.

3. Andere Substanzen

Angeregt durch Untersuchungen von HADDOW (1954) und TAYLOR et al. (1968), verabreichten wir 2,4,5-Triamino-6-styryl-pyrimidin intraperitoneal in einer Dosis von 0,28 mmol/kg, entsprechend einem Viertel von 500 mg/kg Folsäure. 4 Tage später fanden wir eine signifikante Vergrößerung des Feuchtgewichts um 132 %, des Trockengewichts um 70 %. Bei höheren Dosen überlebten nur wenige Tiere.

Wegen einiger Analogien zur Sublimatniere injizierten wir Ratten $HgCl_2$ in verschiedenen Applikationsarten und Dosen. Wenn wir den Ratten 1,5 mg/kg Sublimat intramuskulär verabreichten, fand sich nach 4 Tagen eine signifikante Vermehrung des Feuchtgewichts um 18 %, des Trockengewichts um 11 %. Niedrigere Dosen hatten kleinere Effekte, höhere, besonders bei intravenöser Applikation, meist den vorzeitigen Tod der Tiere zur Folge (Tab. 1 und 2, Abb. 1).

Funktionelle Untersuchungen nach Xanthopterin

Eine intraperitoneale Injektion von 200 mg/kg Xanthopterin löste unter Infusionsbedingungen eine Oligurie aus: die Tiere retinierten in 5 Stunden 60 % der infundierten Flüssigkeit.

4 Tage nach Applikation von 50 mg/kg Xanthopterin

	n	GFR (ml/kg x min)	n	RPF (ml/kg x min)
Kontrollen	6	8,25 ± 0,53	7	26,67 ± 1,78
4 Tage vorher 50 mg/kg Xanthopterin	6	4,80 ± 0,52 $p < 0,001$	6	18,10 ± 1,75 $p < 0,01$
4 Tage vorher 200 mg/kg Xanthopterin	4	2,52 ± 0,39 $p < 0,0002$		

Tabelle 3
Einschränkung der Inulin- und PAH-Clearance nach Xanthopterin.
± = mittlere Abweichung des Mittelwertes

war die Inulin-Clearance von 8,25 auf 4,80 ml/kg x min signifikant abgesunken, die PAH-Clearance auch statistisch gesichert von 26,67 auf 18,10 ml/kg x min erniedrigt (Tab. 3). 4 Tage nach Injektion von 200 mg/kg Xanthopterin war die glomeruläre Filtrationsrate auf 2,52 ml/kg x min gesenkt. Auch dieser Befund war signifikant. Bei dieser Dosis ließ sich zwar unter Infusionsbedingungen eine Diurese erzeugen, die Tiere schieden aber die infundierte Flüssigkeit nicht quantitativ aus.

C. Wasser- und Elektrolyt-Gehalt des Gewebes

1. Leber

Im intra- und extrazellulären Flüssigkeitsgehalt der Leber fanden wir 4 Tage nach 500 mg/kg Folsäure keine signifikanten Veränderungen.

	Dimension	Kontrollen	4 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure
Ges.-H_2O/g FG	ml/g FG	$0,6965 \pm 0,0025$	$0,7000 \pm 0,0025$
		$p < 0,4$	
extraz.H_2O-Gehalt	ml/g FG	$0,1774 \pm 0,0096$	$0,1877 \pm 0,0110$
		$p < 0,5$	
intraz.H_2O-Gehalt	ml/g Fg	$0,5260 \pm 0,0060$	$0,5129 \pm 0,0118$
		$p < 0,4$	
Ges.-Na^+-Gehalt	/uval/g FG	$27,73 \pm 0,49$	$25,71 \pm 0,16$
		$p = 0,0027$	
extraz.Na^+ - Konz.	/uval/ml	$137,93 \pm 1,14$	$126,68 \pm 1,34$
		$p < 0,0002$	
intraz.Na^+ - Konz.	/uval/ml	$7,39 \pm 1,62$	$7,12 \pm 1,85$
		$p < 0,95$	
$\frac{Na^+ (EZF)}{Na^+ (IZF)}$		18,68	17,82
Ges.-K^+ - Gehalt	/uval/g FG	$100,68 \pm 2,08$	$93,31 \pm 2,92$
		$p < 0,1$	
extraz.K^+ - Konz.	/uval/ml	$4,61 \pm 0,13$	$4,12 \pm 0,11$
		$p < 0,02$	
intraz.K^+ - Konz.	/uval/ml	$189,87 \pm 4,42$	$183,49 \pm 7,30$
		$p < 0,5$	
$\frac{K^+ (IZF)}{K^+ (EZF)}$		41,2	40,2
n		6	6

Tabelle 4

Elektrolyt- und Wasser-Gehalt in der Leber.

$\pm$ = mittlere Abweichung des Mittelwertes

	Dimension	Kontrollen	4 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure
Ges.-H_2O/g FG	ml/g FG	$0,7631 \pm 0,0004$	$0,7584 \pm 0,0008$
		$p < 0,0005$	
extraz.H_2O - Gehalt	ml/g FG	$0,1240 \pm 0,0079$	$0,1083 \pm 0,0102$
		$p < 0,3$	
intraz.H_2O - Gehalt	ml/g FG	$0,6387 \pm 0,0050$	$0,6505 \pm 0,0101$
		$p < 0,4$	
Ges.-Na^+ - Gehalt	/uval/g FG	$22,33 \pm 0,30$	$22,11 \pm 0,75$
		$p < 0,5$	
extraz.Na^+ - Konz.	/uval/ml	$137,93 \pm 1,14$	$126,68 \pm 1,34$
		$p < 0,0002$	
intraz.Na^+ - Konz.	/uval/ml	$7,58 \pm 0,73$	$13,30 \pm 2,20$
		$p < 0,04$	
$\frac{Na^+ (EZF)}{Na^+ (IZF)}$		18,17	9,54
Ges.-K^+ - Gehalt	/uval/g FG	$122,94 \pm 1,42$	$112,22 \pm 2,88$
		$p < 0,01$	
extraz.K^+ - Konz.	/uval/ml	$4,61 \pm 0,13$	$4,12 \pm 0,11$
		$p < 0,02$	
intraz.K^+ - Konz.	/uval/ml	$190,86 \pm 3,75$	$170,38 \pm 4,47$
		$p < 0,01$	
$\frac{K^+ (IZF)}{K^+ (EZF)}$		41,4	41,4
n		6	6

Tabelle 5

Elektrolyt- und Wasser-Gehalt in der Skeletmuskulatur.
$\pm$ = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

Der Gesamt-Natrium-Gehalt und die extrazelluläre Natrium-Konzentration waren 4 Tage nach 500 mg/kg Folsäure gegenüber Normaltieren signifikant erniedrigt; die intrazelluläre Natrium-Konzentration lag im Kontrollbereich. Das Verhältnis der Natrium-Konzentration extra- und intrazellulär, das wir aus den Mittelwerten bildeten, war leicht erniedrigt.

Bezüglich des Kalium war lediglich die Erniedrigung der extrazellulären Konzentration bei den Folsäure-Tieren statistisch gesichert, die intrazelluläre Kalium-Konzentration war nicht-signifikant vermindert. Der Quotient aus der intra- und extrazellulären Kalium-Konzentration war leicht erniedrigt (Tab. 4).

2. Skeletmuskulatur

Der Gesamt-Wasser-Anteil des Muskels war unwesentlich herabgesetzt, die extrazelluläre Erniedrigung und die intrazelluläre Erhöhung des Flüssigkeitsanteils waren statistisch nicht gesichert.

Der Gesamt-Natrium-Gehalt des Gewebes war 4 Tage nach 500 mg/kg Folsäure unverändert, die extrazelluläre Konzentration erniedrigt, die intrazelluläre Natrium-Konzentration erhöht. Beide Befunde waren statistisch gesichert. Der Quotient aus der extra- und intrazellulären Natrium-Konzentration war fast auf die Hälfte herabgesetzt.

Der Gesamt-Kalium-Gehalt war signifikant erniedrigt, ebenso die extra- und intrazelluläre Konzentration des Kaliums. Daß die Abnahmen im Kalium-Bestand des Gewebes innerhalb und außerhalb der Zelle im gleichen Ausmaß erfolgten, läßt sich aus dem unveränderten Quotienten ableiten (Tab. 5).

D. Elektrolyt-Ausscheidung unter Infusionsbedingungen

Die Natrium-Bilanz der 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure vorbehandelten Ratten war bei Infusion mit

einer 4,3 %igen Glucose- und 0,2 %igen NaCl-Lösung, entsprechend einer Zufuhr von 171 /uval/Stunde, nach anfänglicher Retention ausgeglichen.

Die Kalium-Ausscheidung der Folsäure-Tiere war in den ersten 5 Stunden deutlich kleiner als bei den Kontrollen. Während sie bei den Normaltieren dann ständig zurückging, schränkten die behandelten Ratten die Kalium-Ausscheidung nicht in gleichem Maße ein. Über 22 Stunden resultierte dadurch eine Mehrausscheidung von 127,3/uval. Alle Befunde waren signifikant.

Tabellarisch (Tab. 6 und 7) konnte in der Gesamtbilanz über 22 Stunden keine Streuung angegeben werden. Für diese Werte mußten wir die Mittelwerte der Einzelperioden addieren, da nicht in allen Versuchen die Elektrolyt-Ausscheidung jedes Zeitabschnittes bestimmt worden war.

E. Elektrolyt-Ausscheidung nach Diuretika

1. Furosemid

Das Anthranilsäurederivat wirkte in allen angewandten Dosen (2,5 , 5, 20, 100 und 300 mg/kg) bei den 4 Tage vorher mit Folsäure vorbehandelten Tieren bezüglich der Natrium- und Kalium-Elimination in der ersten Stunde nach Injektion schwächer als bei den Kontrollen.

In der tabellarischen (Tab. 8) und graphischen (Abb. 2, 3) Darstellung der Furosemid-Dosiswirkungskurve verglichen wir die Elektrolyt-Mehrausscheidung von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, mit der unbehandelter Tiere. Wir gaben die Mehrausscheidung gegenüber den in Tab. 6 und 7 genannten Tieren an, die kein Diuretikum erhalten hatten.

Während in den unteren Bereichen die beiden Kurven ungefähr parallel verliefen, fiel die Wirkung bei der höchsten Furosemiddosis deutlich ab. Alle Befunde waren statistisch gesichert. Bei der absoluten Natrium-

Zeit	1. - 3. Std.	4. - 5. Std.	6. - 7. Std.	8. - 9. Std.	10. - 11. Std.	12. - 22. Std.	1. - 22. Std.
Na^+- Einfuhr (/uval)	513	342	342	342	342	1881	3762
Kontrollen Na^+-Ausscheidung (/uval)	464,9 ±43,5	371,8 ±23,3	303,9 ±19,0	299,4 ±12,0	365,2 ±23,3	1818,3 ± 44,9	3623,5
n	15	20	20	29	29	28	
4 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure Na^+-Ausscheidung (/uval)	370,9 ±31,4	321,8 ±20,0	280,6 ±12,3	339,7 ±27,2	334,8 ±25,9	1953,9 ± 93,7	3601,7
n	15	20	20	18	18	16	

Tabelle 6

Natrium-Ausscheidung in /uval von normalen Ratten und solchen, denen 4 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure verabreicht worden war. 22-stündige Dauerinfusion mit einer Lösung, die 0,2 % NaCl und 4,3 % Glucose enthält.

Wert	1. - 3. Std.	4. - 5. Std.	6. - 7. Std.	8. - 9. Std.	10. - 11. Std.	12. - 22. Std.	1. - 22. Std.
Kontrollen K^+-Ausscheidung(/uval)	234,1 ±10,8	125,1 ± 6,7	83,9 ±5,2	75,1 ±4,6	69,8 ±3,2	178,4 ±11,3	766,4
n	15	20	20	30	30	29	
4 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure K^+-Ausscheidung(/uval)	138,9 ±14,9	84,1 ±4,1	84,8 ±3,4	92,5 ±4,8	88,7 ±6,3	404,7 ±18,2	893,7
n	15	20	20	16	16	16	
p	<0,0002	<0,0002		<0,02	<0,02	<0,0002	

Tabelle 7

Kalium-Ausscheidung in /uval von normalen Ratten und solchen, denen 4 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure verabreicht worden war. 22-stündige Dauerinfusion mit einer Lösung, die 0,2 % NaCl und 4,3 % Glucose enthält.

Ausscheidung (Abb. 4) und der Natrium-Mehrausscheidung (Tab. 9) über 4 Stunden zeigte sich ein protrahierter Effekt des Diuretikums. Dieser Befund gilt für alle verwendeten Dosierungen; als Beispiel seien die Ergebnisse nach 5 mg/kg Furosemid angeführt. Während in der 1. Stunde nach Injektion die Mehrausscheidung der Kontrollen die der Folsäure-Tiere um mehr als das Doppelte übertrag, machte sie in der 2. Stunde wenig mehr als 1/5 aus. In der 2. bis 4. Stunde retinierten die Normaltiere Natrium, die mit Folsäure vorbehandelten zeigten immer noch eine leichte Mehrausscheidung. Diese Ergebnisse waren signifikant.

Für die Kalium-Elimination ergaben sich prinzipiell gleiche Befunde; der deutlich stärkere Effekt des Furosemid bei den Kontrollen war jedoch nur in der 1. Stunde statistisch signifikant.

2. Chlorothiazid

Chlorothiazid hatte in allen verwendeten Dosen (10, 30, 150, 300 mg/kg) in der 1. Stunde nach Injektion bei den Folsäure-Tieren einen deutlich schwächeren Effekt auf die Natrium-Ausscheidung, so daß die Dosiswirkungskurve der der Normaltiere etwa parallel, jedoch tiefer verlief. Alle Werte waren statistisch gesichert (Abb. 5, Tab. 10).

Auf die Kalium-Ausscheidung wirkte Chlorothiazid bei Folsäure-vorbehandelten Tieren bei einer Dosierung von 10 mg/kg in der 1. Stunde wie bei den Kontrollen, nach höheren Dosen jedoch schwächer (Abb. 6).

Auch bei Chlorothiazid ergab sich in allen Dosierungen bezüglich der Natrium-Elimination bei den mit Folsäure vorbehandelten Tieren eine protrahierte Wirkung. Als Beispiel sei die Natrium-Mehrausscheidung (Tab. 11) bzw. die absolute Natrium-Ausscheidung (Abb. 7) nach 10 mg/kg Chlorothiazid genannt. In der 1. Stunde nach Injektion war die Mehrausscheidung signifikant auf etwa die Hälfte erniedrigt, in der 2. ungefähr

Dosis	2,5 mg/kg	5,0 mg/kg	20,0 mg/kg	100,0 mg/kg	300,0 mg/kg
Furosemid ΔNa^+ (/uval)	+ 576,4 ± 58,1	+ 586,1 ± 44,3	+ 811,1 ± 45,5	+1394,7 ± 54,3	+1656,6 ± 27,6
n	5	5	8	5	4
500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Furosemid					
ΔNa^+ (/uval)	+ 235,2 ± 27,4	+ 243,4 ± 94,4	+ 438,5 ± 79,5	+ 724,0 ± 85,3	+ 686,9 ± 155,7
n	5	5	6	5	5
p	<0,001	<0,02	<0,0027	<0,0002	<0,001
Furosemid ΔK^+ (/uval)	+ 40,0 ± 3,6	+ 45,3 ± 4,3	+ 69,0 ± 4,6	+ 104,3 ± 5,1	+ 115,1 ± 1,6
n	5	5	8	5	4
500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Furosemid					
ΔK^+ (/uval)	+ 12,9 ± 6,1	+ 13,0 ± 5,7	+ 41,3 ± 7,0	+ 61,9 ± 3,9	+ 46,7 ± 8,6
n	5	5	6	5	5
p	<0,01	<0,002	<0,01	<0,0002	<0,0002

Tabelle 8

Furosemid-Dosiswirkungsbeziehung: Natrium- und Kalium-Mehrausscheidung (ΔNa^+, ΔK^+) von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen in der 1. Stunde nach Injektion. Mehrausscheidung gegenüber den in den Tabellen 6 und 7 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

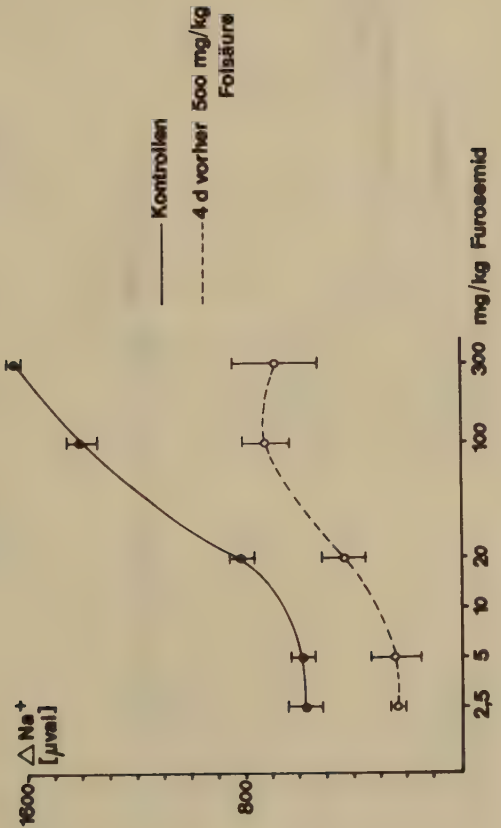

Abbildung 2

Furosemid-Dosiswirkungskurve: Natrium-Mehrausscheidung von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen in der 1. Stunde nach Injektion. Mehrausscheidung gegenüber den in Tabelle 6 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.
± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

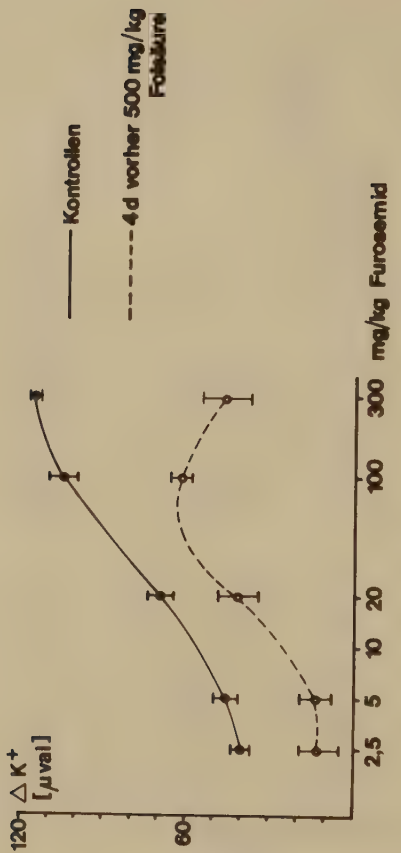

Abbildung 3

Furosemid-Dosiswirkungskurve: Kalium-Mehrausscheidung von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen in der 1. Stunde nach Injektion. Mehrausscheidung gegenüber den in Tabelle 7 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.
± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

	n	1.Std.	2.Std.	3.+4.Std.
Furosemid				
ΔNa^+ (/uval)	5	+ 586,1	+ 32,6	- 145,9
		± 44,3	± 14,3	± 33,4
500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Furosemid				
ΔNa^+ (/uval)	5	+ 243,4	+ 158,6	+ 40,4
		± 94,4	± 23,2	± 65,1
		p < 0,02	p<0,002	p< 0,04
Furosemid				
ΔK^+ (/uval)	5	+ 45,3	+ 4,1	+ 11,0
		± 4,3	± 4,6	± 6,9
500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Furosemid				
ΔK^+ (/uval)	5	+ 13,0	+ 18,2	+ 12,1
		± 5,7	± 5,4	± 14,3
		p< 0,002	p< 0,09	

Tabelle 9

Wirkung von 5 mg/kg Furosemid auf die Natrium- und Kalium-Ausscheidung von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen während der ersten 4 Stunden nach Injektion von Furosemid. Mehrausscheidung (ΔNa^+, ΔK^+) gegenüber den in den Tabellen 6 und 7 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

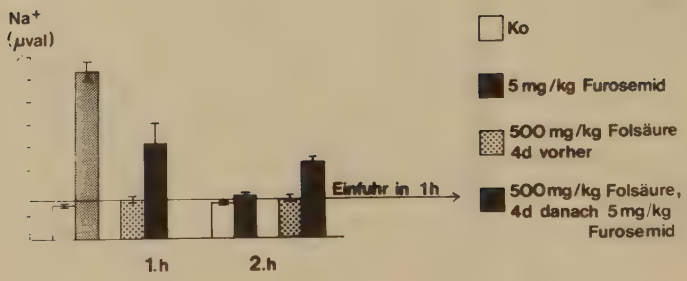

Abbildung 4

Wirkung von 5 mg/kg Furosemid auf die Natrium-Ausscheidung im Vergleich zur Einfuhr bei Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, und bei Kontrollen.
$\pm$ = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

gleich, in der 3. bis 4. Stunde bei den Folsäure-Tieren noch deutlich vorhanden, bei den Normaltieren einer Retention gewichen. Der letzte Befund war allerdings nicht signifikant.

Die Kalium-Mehrausscheidung lag bei den Folsäure-Tieren in der 1. Stunde nach 10 mg/kg Chlorothiazid im Bereich

Dosis	10,0 mg/kg	30,0 mg/kg	150,0 mg/kg	300,0 mg/kg
Chlorothiazid ΔNa^+ (/uval)	+ 326,6	+ 351,7	+ 647,3	+ 764,6
	± 15,8	± 26,6	± 23,8	± 30,6
n	5	4	4	4
500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Chlorothiazid				
ΔNa^+ (/uval)	+ 115,8	+ 181,4	+ 376,9	+ 509,1
	± 74,8	± 11,4	± 13,6	± 34,6
n	4	4	4	5
p	< 0,03	< 0,002	< 0,0002	< 0,001
Chlorothiazid ΔK^+ (/uval)	+ 24,5	+ 48,2		+ 77,1
	± 5,9	± 10,3		± 6,1
n	5	4		4
500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Chlorothiazid				
ΔK^+ (/uval)	+ 27,8	+ 31,3		+ 60,8
	± 9,5	± 3,3		± 10,5
n	4	4		5
p		< 0,2		< 0,3

Tabelle 10

Chlorothiazid-Dosiswirkungsbeziehung: Natrium- und Kalium-Mehrausscheidung (ΔNa^+, ΔK^+) von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen in der 1. Stunde nach Injektion. Mehrausscheidung gegenüber den in den Tabellen 6 und 7 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

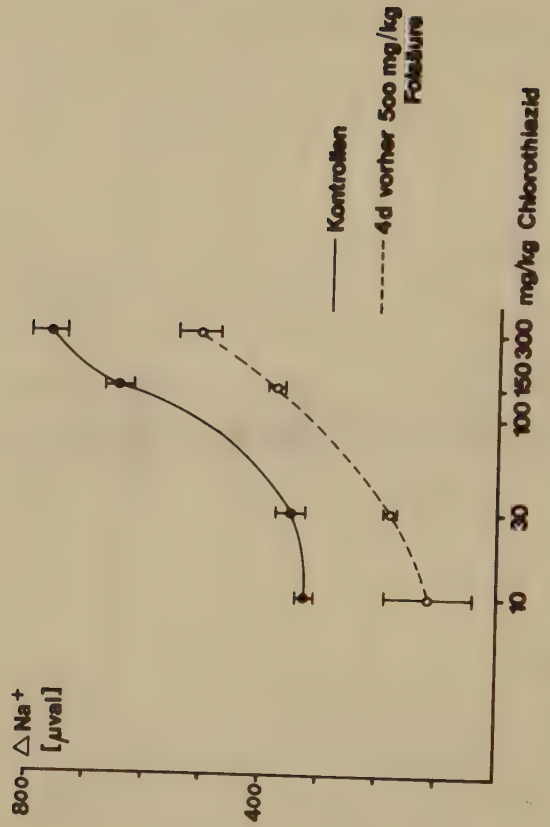

Abbildung 5

Chlorothiazid-Dosiswirkungskurve: Natrium-Mehrausscheidung von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen in der 1. Stunde nach Injektion. Mehrausscheidung gegenüber den in Tabelle 6 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

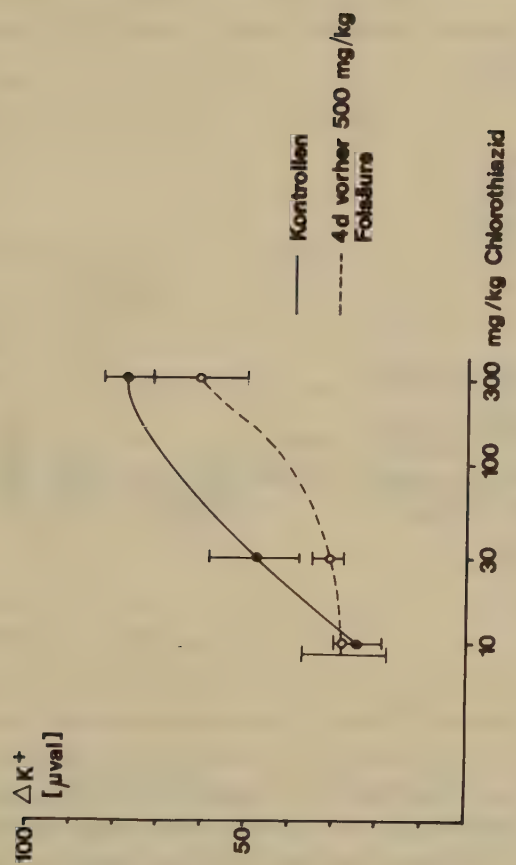

Abbildung 6

Chlorothiazid-Dosiswirkungskurve: Kalium-Mehrausscheidung von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen in der 1. Stunde nach Injektion. Mehrausscheidung gegenüber den in Tabelle 7 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

	n	1.Std.	2.Std.	3.+4.Std.
Chlorothiazid ΔNa^+ (/uval)	5	+ 326,6 ± 15,6	+ 82,9 ± 28,6	- 82,6 ± 33,0
500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Chlorothiazid ΔNa^+ (/uval)	4	+ 115,8 ± 74,8 p < 0,03	+ 76,5 ± 48,8	+ 118,7 ± 91,8 p < 0,1
Chlorothiazid ΔK^+ (/uval)	5	+ 24,5 ± 5,9	- 0,5 ± 6,7	- 16,5 ± 10,5
500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Chlorothiazid ΔK^+ (/uval)	4	+ 27,8 ± 9,5	+ 44,7 ± 15,9 p<0,0002	+ 59,1 ± 26,7 p < 0,04

Tabelle 11
Wirkung von 10 mg/kg Chlorothiazid auf die Natrium- und Kalium-Ausscheidung von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen während der ersten 4 Stunden nach Injektion von Chlorothiazid. Mehrausscheidung (ΔNa^+, ΔK^+) gegenüber den in den Tabellen 6 und 7 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.
± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

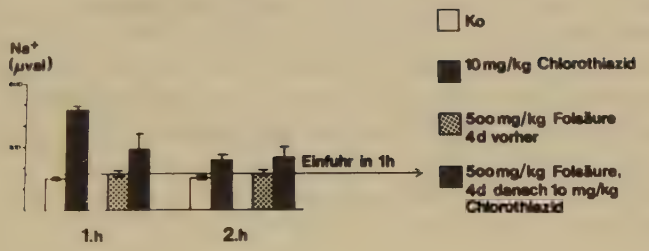

Abbildung 7

Wirkung von 10 mg/kg Chlorothiazid auf die Natrium-Ausscheidung im Vergleich zur Einfuhr bei Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, und bei Kontrollen.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

der Kontrollen. Jenseits der 1. Stunde schieden die mit dem Diuretikum behandelten Normaltiere weniger Kalium aus als die unbehandelten Ratten; die mit Folsäure 4 Tage vorher vorbehandelten Tiere schieden in der 2. bis 4. Stunde nach Applikation der gleichen Dosis Chlorothiazid mehr Kalium aus als die nicht mit dem Diuretikum behandelten Folsäure-Tiere.

3. Amilorid

Nach der an Normaltieren sicher maximal wirksamen Dosis von 10 mg/kg Amilorid (BAER, JONES, SPITZER, RUSSO 1967) zeigten die mit 500 mg/kg Folsäure vorbehandelten Ratten das gleiche Ausmaß der Natrium-Mehrausscheidung (Tab. 12) und der absoluten Natrium-Ausscheidung (Abb. 8) wie Normaltiere, die das Diuretikum erhalten hatten.

Amilorid konnte die während der 8. bis 9. Stunde nach Infusionsbeginn (entsprechend den ersten beiden Stunden nach Injektion) bestehende Kalium-Mehrausscheidung bei den mit Folsäure vorbehandelten Tieren unter den Wert der Kontrollen senken (Abb. 9). Die durch das Pharmakon erzeugte Kalium-Retention war also stärker als bei den Normaltieren (Tab. 12). Diese Erscheinung war statistisch gesichert und hielt auch während der vierstündigen Versuchsdauer an.

4. Triamteren

Triamteren erzeugte bei Folsäure-Tieren in der hohen Dosierung von 20 mg/kg in den beiden ersten Stunden nach Applikation eine gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigte Natrium-Mehrausscheidung, die auch in der 3. bis 4. Stunde, statistisch allerdings nicht gesichert, kleiner blieb (Tab. 13). Entsprechend war der diuretische Effekt auch bei Angabe der Absolutwerte kleiner (Abb. 10). Die Kalium-Elimination wurde bei den mit Folsäure vorbehandelten Ratten und den Normaltieren während der beiden ersten Stunden im gleichen Ausmaß herabgesetzt, so daß auch die Kalium-Mehrausscheidung der Folsäure-Tiere im gleichen Ausmaß erhalten blieb (Tab. 13, Abb. 11). In der 3. bis 4. Stunde wirkte die Pteridinverbindung stärker Kalium-retinierend als bei den Kontrollen.

	n	1. + 2.Std.	3. + 4.Std.	1. - 4.Std.
Amilorid ΔNa^+ ($/$uval) 500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Amilorid	9	+ 225,1±49,7	+ 156,0±35,4	+ 381,2±76,1
Amilorid ΔNa^+ ($/$uval)	10	+ 217,4±32,9	+ 188,7±45,8	+ 406,0±65,5
Amilorid ΔK^+ ($/$uval) 500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Amilorid	9	- 41,8± 3,2	- 47,4± 1,7	- 89,1± 4,3
Amilorid ΔK^+ ($/$uval)	10	- 65,0± 2,0 $p < 0,0002$	- 72,2± 1,4 $p < 0,0002$	- 137,1± 2,8 $p < 0,0002$

Tabelle 12

Wirkung von 10 mg/kg Amilorid auf die Natrium- und Kalium-Ausscheidung von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen während der ersten 4 Stunden nach Injektion von Amilorid. Mehrausscheidung (ΔNa^+, ΔK^+) gegenüber den in den Tabellen 6 und 7 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

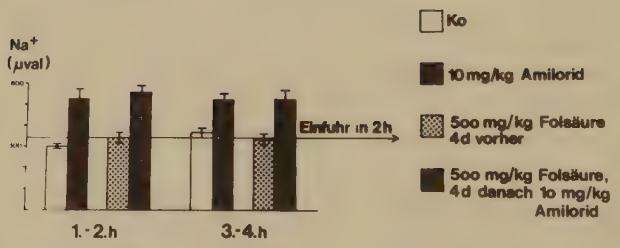

Abbildung 8

Wirkung von 10 mg/kg Amilorid auf die Natrium-Ausscheidung im Vergleich zur Einfuhr bei Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, und bei Kontrollen.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

F. Urinkonzentration

4 Tage nach 500 mg/kg Folsäure zeigten die Ratten im Durstversuch eine signifikant erhöhte Flüssigkeitsausscheidung. Als Maß für die Urinkonzentration verwendeten wir die Dichte des Harns, die gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigt war. Diese Befunde wurden mit zunehmender Dauer des Durstens

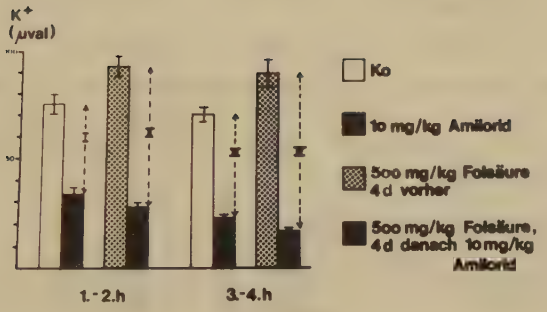

Abbildung 9

Kalium-retinierende Wirkung nach 10 mg/kg Amilorid bei Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren (II und IV), und bei Kontrollen (I und III).

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

deutlicher und waren in der 8. bis 22. Stunde nach dem Beginn besonders auffällig.

7 Tage nach Folsäuregabe war das Konzentrierungsvermögen weniger herabgesetzt. Nach einer weiteren Woche hatten Dichte und Volumen des Harns der Folsäure-vorbehandelten Ratten den Wert der Kontrollen erreicht (Tab. 14).

	n	1. + 2.Std.	3. + 4.Std.	1. - 4.Std.
Triamteren ΔNa^+ (/uval) 500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Triamteren ΔNa^+ (/uval)	8	+213,2±29,3	+151,3±40,7	+364,6±54,0
	8	+114,2±20,3 $p < 0,02$	+ 84,2±21,4 $p < 0,2$	+198,3±36,7 $p < 0,03$
Triamteren ΔK^+ (/uval) 500 mg/kg Folsäure, 4 d danach Triamteren ΔK^+ (/uval)	8	- 54,5± 1,8	- 40,0± 2,2	- 94,4± 3,2
	8	- 54,5± 2,8	- 51,4± 4,2 $p < 0,04$	-105,9± 6,2

Tabelle 13

Wirkung von 20 mg/kg Triamteren auf die Natrium- und Kalium-Ausscheidung von Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, gegenüber Kontrollen während der ersten 4 Stunden nach Applikation von Triamteren. Mehrausscheidung ($\Delta Na^+, \Delta K^+$) gegenüber den in den Tabellen 6 und 7 angegebenen Tieren, die kein Diuretikum erhalten hatten.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

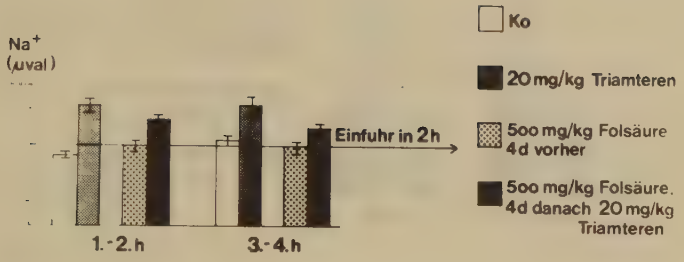

Abbildung 10

Wirkung von 20 mg/kg Triamteren auf die Natrium-Ausscheidung im Vergleich zur Einfuhr bei Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren, und bei Kontrollen.

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

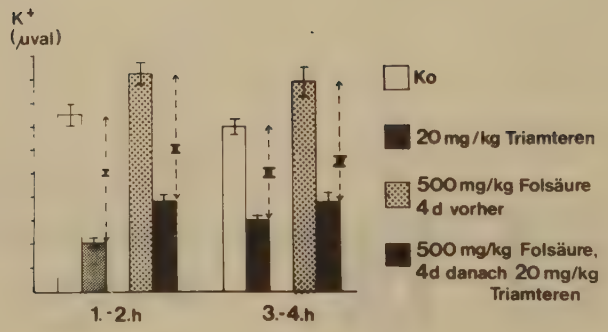

Abbildung 11

Kalium-retinierende Wirkung nach 20 mg/kg Triamteren bei Ratten, die 4 Tage vorher mit 500 mg/kg Folsäure behandelt waren (II und IV), und bei Kontrollen (I und III).

± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

	n	Urinvolumen (ml)	Urindichte (g/ml)
Kontrollen	8	3,59 ± 0,30	1,04403 ± 0,00171
4 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure	7	7,37 ± 0,54 p < 0,0002	1,02447 ± 0,00290 p < 0,0002
7 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure	4	3,88 ± 0,63	1,03137 ± 0,00176 p < 0,0005
14 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure	6	3,87 ± 0,27	1,04320 ± 0,00117

Tabelle 14
Durstversuch: Volumen und Dichte des Harns von Ratten, die 4, 7 und 14 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure erhalten haben.
Sammelperiode: 7. - 22. Stunde nach Beginn des Durstens.
± = mittlere Abweichung des Mittelwertes.

III. Diskussion

A. Nierengewichte

Der gemeinsame Bestandteil der Folsäure und des Xanthopterin ist der Pteridin-Ring. Wir vermuteten daher in ihm die für die beschriebene Nierenvergrößerung verantwortliche Struktur. Andererseits hatten jedoch ADDIS, MACKAY und MACKAY schon 1926 auf den nierenvergrößernden Effekt der Glutaminsäure und anderer Aminosäuren hingewiesen; sie hatten die Substanzen allerdings über einen längeren Zeitraum mit der Nahrung zugeführt.

Da eine einmalige Injektion aequimolarer Dosen der Folsäure-Bruchstücke (Abb. 1) nur im Falle des 2-Amino-4-hydroxy-pteridins zur Nierenvergrößerung führte, halten wir diesen Bestandteil hinsichtlich der Proliferation für den maßgeblichen Baustein des Moleküls (Tab. 1). Die Wirkung des 2-Amino-4-hydroxy-pteridins auf das Frisch- und Trockengewicht der Nieren ist jedoch kleiner als die der Folsäure, was auf der Suspendierung in Öl und anschließender intraperitonealer Injektion im Gegensatz zur intravenösen bei Folsäure beruhen könnte.

Xanthopterin erzeugt in der Dosierung von 1,17 mmol/kg zwar eine fast gleiche Feuchtgewichtsvermehrung wie 1,13 mmol/kg Folsäure, die Vermehrung des Trockengewichts ist jedoch wesentlich niedriger (Tab. 2). Der Effekt der Folsäure und des Xanthopterins auf die Niere ist als Regeneration nach vorhergehender Schädigung aufzufassen (BRADE, HERKEN, MERKER, 1968). Da Folsäure enthaltende Fermente bei der Purinsynthese bedeutsam sind, wäre eine enzymatische Beteiligung der in der Niere retinierten Folsäure an der Nucleinsäure-Synthese denkbar. Diese Funktion könnte die stärkere Trockengewichtsvermehrung als nach Xanthopteringabe erklären.

Eine Injektion von 100 mg/kg Folsäure erhöhte das

Feuchtgewicht nur wenig, das Trockengewicht nicht signifikant (Tab. 1). Wir verteilten die Gesamtdosis von 500 mg/kg dann auf 5 Gaben zu je 100 mg/kg in 9-stündigem Abstand und beobachteten eine deutliche Gewichtsvermehrung, die allerdings nicht den Umfang der einmaligen Injektion der hohen Dosis erreichte. Die tubuläre Rückresorptionskapazität für Folsäure ist im Verhältnis zu unseren Dosen klein (GORESKY, WATANABE, JOHNS, 1963). Da ein großer Teil der applizierten Menge im Urin unverändert ausgeschieden wird (BRADE, HERKEN, MERKER, 1969), läßt sich aus unseren Befunden schließen, daß die Niere Folsäure bis zu einer Grenze eliminieren kann. Bei Überschreiten dieser Grenze kristallisiert sie intratubulär aus und führt zu einer Schädigung des Nierenepithels. Die Ausscheidungsfähigkeit für Folsäure hängt von der Diurese ab, denn die Nierenvergrößerung nach Folsäure-Injektion unter Infusionsbedingungen erwies sich als kleiner.

Die anderen geprüften Pteridinderivate (Abb. 1) hatten keine Wirkung auf das Nierengewicht. Es fällt auf, daß beide von uns benutzten Verbindungen am Kohlenstoffatom 6 mit einem Phenylring substituiert sind. Diese Substitution haben sie mit dem Triamteren (2,4,7-Triamino-6-phenyl-pteridin) gemeinsam, das nach Angaben von TAYLOR, TERELFALL und BUCK (1968) ebenfalls keinen Einfluß auf das Nierengewicht hat. Die Autoren hielten die Löslichkeit eines Pteridins im Alkalischen, wie bei der Folsäure und dem Xanthopterin, für die Voraussetzung des Effekts auf die Nierengröße, da Triamteren als Triamino-Verbindung nur im sauren Bereich löslich ist. Es ist jedoch auch die Resorptionsfähigkeit aus dem Peritonealraum zu berücksichtigen, denn in unseren Versuchen fanden sich bei Tötung der Tiere noch große Mengen der Substanzen am Injektionsort.

Auch nach Applikation von 2,4,5-Triamino-6-styryl-

pyrimidin fanden wir eine Zunahme des Nierengewichts; sie übertraf die anderen Verbindungen erheblich an Wirksamkeit. Das beweist, daß nicht nur Pteridin-derivate Nierenproliferationen auslösen.

In der Literatur waren keine Angaben über das Nierengewicht bei der Sublimatvergiftung zu finden. Um die Parallelen zu dieser Schwermetallintoxikation zu stützen, prüften wir das Nierengewicht nach 1,5 mg/kg $HgCl_2$. Neben schweren, makroskopisch sichtbaren Nekrosen trat eine, wenn auch schwache, Feucht- und Trockengewichtsvermehrung auf, was mit den Angaben der Literatur über eine vermehrte DNS-Synthese und einen ansteigenden Mitose-Index korrelliert (NOLTENIUS, SCHELLHAS, 1963). Eine Dosissteigerung zur Anregung einer stärkeren Regeneration wurde in unseren Versuchen von den meisten Tieren nicht überlebt.

Die funktionellen Schädigungen des harnbereitenden Systems durch Folsäure scheinen von geringerem Ausmaß zu sein als durch Schwermetallsalze; denn 4 Tage nach Applikation der Folsäure fanden wir eine ausgeglichene Natrium-Bilanz; das abgesunkene Urinkonzentrationsvermögen stieg an. Zudem ließen sich durch Folsäure, Xanthopterin und das Styryl-pyrimidin-Derivat extreme Gewichtszunahmen der Nieren erreichen, die durch andere Substanzen nicht zu erzielen sind. Es ist daher zu vermuten, daß der Wirkungsmechanismus der Pteridin- und Pyrimidin-Derivate von dem der Schwermetallsalze verschieden ist.

B. Funktionelle Untersuchungen nach Xanthopterin

Da wir nach Xanthopterin prinzipiell die gleichen Ergebnisse erhielten, die BRADE, HERKEN und MERKER (1968) mit derselben Methodik nach Folsäure gewonnen hatten, ist auch durch dieses Pteridin eine Schädigung der Niere anzunehmen. Dies wird auch durch die im gleichen Maß herabgesetzte glomeruläre Filtration nach

aequimolaren Dosen von Xanthopterin gestützt, denn die genannten Autoren fanden ebenfalls eine Einschränkung der Inulin-Clearance auf 2,5 ml/kg x min. Die Schädigung der Niere muß aber stärker gewesen sein, bzw. - analog den Trockengewichtsbefunden - die Regeneration war 4 Tage nach der Injektion noch nicht so weit fortgeschritten wie nach Folsäure, da die Tiere die infundierte Flüssigkeit nicht quantitativ ausscheiden konnten.

Die Parallelen zum akuten Nierenversagen nach Xanthopterin und Folsäure stimmen auch mit neueren Untersuchungen von HENRY, LANE und KASHGARIAN (1968) und BIBER et al. (1968) überein, die wenige Tage nach Gabe von Sublimat und Kaliumdichromat eine eingeschränkte Filtration und Durchblutung der Niere beschrieben. Mit dem von uns angewandten Verfahren der PAH-Clearance ließe sich nur bedingt auf eine Erniedrigung des renalen Plasmaflusses schließen. Da PAH glomerulär filtriert, aber auch tubulär sezerniert wird (SMITH et al. 1945), wir aber eine PAH-Bestimmung im Nierenvenen-Blut nicht durchführten, wären aufgrund der elektronenoptisch sichtbaren Schäden im proximalen Tubulus (BRADE, HERKEN, MERKER, 1968, 1969)die von uns ermittelten RPF-Werte um die eventuelle PAH-Sekretionseinschränkung zu korrigieren.

Es ist schwierig, die Ursache für die eingeschränkte Clearance nach Folsäure und Xanthopterin anzugeben. HENRY et al. (1968) erklären die verminderte glomeruläre Filtration im akuten Nierenversagen mit dem von THURAU und SCHNERMANN (1965) beschriebenen Regulationsmechanismus: Danach führt eine erniedrigte proximale Natrium-Reabsorption zu einer erhöhten Natrium-Konzentration im Bereich der Macula densa, die wiederum eine Reninfreisetzung hervorrufen soll. Die Filtrationsrate wird dann durch eine präglomeruläre arterielle Vasokonstriktion gesenkt. Diese Vasokonstriktion vor den Glomerula vermuteten auch FLANIGAN und OKEN (1965) als Ursache für die gesenkte

Inulin-Clearance. Da beim akuten Nierenversagen die proximale Reabsorptionskapazität für Natrium herabgesetzt ist (HENRY et al. 1968, BIBER et al. 1968), könnte über diesen Mechanismus die verminderte Filtration erklärt werden. BRADE, HERKEN und MERKER (1968, 1969) hatten allerdings keine morphologischen Veränderungen der präglomerulären Arteriolen und des iuxta-glomerulären Apparates nach Folsäuregabe gefunden.

C. Elektrolyt-Gehalt des Gewebes

Die Veränderungen der Elektrolyte in der Leber gleichen im wesentlichen denen des Muskels, in dem sie aber deutlicher ausgeprägt sind.

Die auffälligsten Abweichungen 4 Tage nach 500 mg/kg Folsäure bestehen in einer Abnahme der Konzentration an Kalium in der extrazellulären und intrazellulären Flüssigkeit, in einer herabgesetzten Natrium-Konzentration im extrazellulären und einer Zunahme der Natrium-Konzentration im intrazellulären Raum. Im Skeletmuskel ist der Gesamt-Wasser-Gehalt außerdem leicht erniedrigt (Tab. 4 und 5).

Die erniedrigten Kalium-Konzentrationen können wir am besten mit der Gewichtsabnahme der Ratten nach Applikation der Folsäure in Zusammenhang bringen. Denn Ratten, denen wir 500 mg/kg Folsäure injiziert hatten, verloren innerhalb der folgenden 4 Tage 12,5 g an Gewicht, während die Kontrollen in der gleichen Zeit im Mittel um 15,7 g zunahmen. Offenbar führt die Vorbehandlung mit Folsäure zu einem Gewebeabbau. Da beim Einschmelzen von Eiweiß und Glykogen im Hungerzustand Kalium aus dem Gewebe freigesetzt wird (KATZ, HOLLINGWORTH und EPSTEIN, 1968) verarmt das Gewebe auch an Kalium. Die Ratten befinden sich 4 Tage nach Applikation der Folsäure also in einem Kalium-Defizit, was meist (TARAIL, ELKINTON, 1949) nicht nur mit einer Abnahme der intrazellulären, sondern auch der extrazellulären Konzentration an

Kalium einhergeht. Das war auch bei uns der Fall. Der Vergleich mit dem Hungerzustand ist auch deswegen berechtigt, weil die Tiere in den Tagen nach der Injektion kaum Nahrung zu sich nehmen. Eine Hyponatriämie tritt auch im diätetisch erzeugten Kalium-Mangel auf (KAESS et al., 1965).

Die Abnahme der Natrium-Konzentration im Serum stimmt mit dem gleichen Befund in der polyurischen Phase des akuten Nierenversagens nach $K_2Cr_2O_7$ und $HgCl_2$ überein (BIBER et al., 1968). Dem extrazellulären Abfall steht ein intrazellulärer Anstieg der Natrium-Konzentration gegenüber, den auch KAESS et al. (1965) im experimentell erzeugten Kalium-Defizit beschrieben. Die erhöhte Natrium-Konzentration ist zum elektrostatischen Ausgleich des intrazellulären Kationen-Verlustes nötig, was auch mit dem größeren Anstieg der Natrium-Konzentration in der stärker Kalium-verarmten Skeletmuskulatur bei den Folsäure-Tieren in Einklang steht.

D. Elektrolyt-Ausscheidung nach Diuretika

Da die Folsäure-Tiere zur Erreichung eines "steady state" mehr Zeit benötigen (Tab. 6), haben wir die Wirksamkeit der Diuretika erst nach 7-stündiger Infusion geprüft. Zu dieser Zeit besteht eine Kalium-Mehrausscheidung, die BRADE, HERKEN und MERKER (1969) in Korrelation mit der Stickstoffausscheidung und damit dem gesteigerten Gewebeabbau nach Folsäure brachten.

Furosemid, dessen Angriffspunkt von vielen Autoren im aufsteigenden Schenkel der Henleschen Schleife und auch im proximalen Tubulus lokalisiert wird (DEETJEN 1965, MENG 1966, SELDIN et al. 1966, HOLZGREVE 1968), förderte in der 1. Stunde nach der Injektion bei Folsäure-vorbehandelten Tieren die Natrium- und Kalium-Ausscheidung in allen Dosen wesentlich schwächer (Tab. 8, Abb. 4). Das Anthranilsäurederivat wird wegen der hohen Eiweißbindung (DEETJEN, 1966)

weniger glomerulär filtriert als proximal sezerniert (SENFT 1964, GAYER 1965, DEETJEN 1966). Da Diuretika ihre Wirksamkeit behalten, solange die glomeruläre Filtration nicht unter 1/6 der Norm abgefallen ist (REUBI, COTTIER 1961), ist eine tubuläre Beeinträchtigung nach Folsäure anzunehmen, für die folgende Erklärungen möglich sind.

Die Resorptionskapazität des proximalen Tubulus ist beim akuten Nierenversagen vermindert (BIBER et al., 1968, HENRY et al. 1968); daher kann ein Pharmakon, das die proximale Natrium-Resorption hemmt, nur schwächer auf die Natrium-Elimination wirken. Da die PAH-Clearance herabgesetzt ist, ist auch eine Beeinträchtigung der sekretorischen Funktionen des Tubulus denkbar, so daß die für die Wirksamkeit verantwortliche intratubuläre Furosemid-Konzentration (DEETJEN 1966) erniedrigt ist.

Der Abfall der Dosiswirkungskurve bei hohen Dosen des Diuretikums läßt sich mit der Einschränkung der Clearance durch Furosemid erklären (SENFT, LOSERT, LÜBBEMEIER 1968), so daß die bei Folsäure-Tieren bereits auf etwa 1/3 herabgesetzte Clearance noch weiter erniedrigt wird. Auffällig war die ebenfalls bei allen Dosierungen auftretende protrahierte diuretische Wirkung des Furosemid nach Folsäuregabe (Tab. 9, Abb. 4). Dadurch gleicht die Natrium-Elimination über 4 Stunden zwar fast der der Kontrollen, diese Erscheinung ist aber nur durch eine reaktive Retention bei den Normaltieren möglich. Der diuretische Effekt wird bei den Folsäure-Tieren also nachgeholt, er erreicht aber nicht die Höhe wie bei den Normaltieren.

Die verzögerte Furosemidwirkung läßt sich gut mit einer verminderten Sekretion des Diuretikums vereinbaren. Infolgedessen erreicht die intratubuläre Konzentration des Anthranilsäurederivats zu keinem Zeitpunkt die Höhe wie bei normalen Ratten.

Nach Chlorothiazid fanden wir bezüglich der Natrium-Mehrausscheidung bei allen Dosierungen in der 1. Stunde nach der Injektion auch eine schwächere Wirksamkeit. Da dieses Diuretikum ebenfalls proximal sezerniert wird (KESSLER et al., 1959, SENFT 1964) und sowohl im proximalen Tubulus als auch im aufsteigenden Schenkel der Henleschen Schleife angreifen soll (VANDER et al., 1959, KESSLER et al., 1959, SELDIN et al., 1966), sind auch hier die gleichen Ursachen für die schwächere Wirksamkeit nach Folsäuregabe wie im Falle des Furosemid zu vermuten. Die protrahierte Wirkung des Chlorothiazid (Tab. 11) läßt wie beim Anthranilsäurederivat an eine beeinträchtigte Sekretion im proximalen Abschnitt denken.

Wir fanden in der Dosiswirkungskurve bei den mit Folsäure vorbehandelten Ratten eine geringere Kalium-Ausscheidung durch Chlorothiazid als bei den Normaltieren, die das Diuretikum erhalten hatten. Während die Kontrollen nach der 1. Stunde jedoch Kalium retinierten, behielten die Folsäure-behandelten Tiere die Kalium-Mehrausscheidung bei (Tab. 11).

Kalium wird nach der von BERLINER (1950) aufgestellten Theorie im proximalen Tubulus fast vollständig rückresorbiert. Die im Endharn erscheinende Menge rührt überwiegend von der Sekretion im distalen Tubulus her. Der Kalium-Fluß aus der Tubuluszelle in den distalen Tubulus folgt einem elektro-chemischen Gradienten: daneben jedoch wird noch ein quantitativ geringerer aktiver Transport von Kalium-Ionen in umgekehrter Richtung aus der distalen Tubulus-Flüssigkeit in die Zelle angenommen (GIEBISCH et al., 1967).

Die nach der 1. Stunde nach Chlorothiazid-Injektion bei den Folsäure-behandelten Tieren fortbestehende Kalium-Mehrausscheidung läßt sich durch die protrahierte Wirkung des Diuretikums infolge eingeschränkter proximaler Chlorothiazid-Sekretion erklären.

Die proximale Natrium-Rückresorption wird bei den Folsäure-behandelten Tieren durch Chlorothiazid schwächer, aber anhaltender gehemmt, so daß über einen längeren Zeitraum als bei Normaltieren das Natriumangebot an den distalen Tubulus erhöht ist. In diesem Teil des Nephron findet nach verbreiteter Meinung ein $Na^+ - K^+$ - Austausch statt. Der Umfang der distalen K^+ - Sekretion hängt von dem dort herrschenden Na^+ - Angebot ab, wenn auch ein Austausch im Verhältnis 1:1 in Frage gestellt wird (GIEBISCH et al., 1967). Bei den mit Folsäure behandelten Ratten führt der länger als bei den Kontrollen anhaltende Natrium-Einstrom in den distalen Tubulus zu einem zeitlich verlängerten $Na^+ - K^+$ - Austausch und damit zu einer erhöhten Kalium-Ausscheidung.

Im Gegensatz dazu beobachteten wir bei Folsäure-behandelten Tieren nach Furosemid während der 4-stündigen Sammelperiode neben der gegenüber den Kontrollen herabgesetzten Na^+ - Elimination auch eine erniedrigte K^+ - Ausscheidung (Tab. 9). Dieser Befund könnte dadurch erklärt werden, daß Furosemid die Natrium-Rückresorption auch im distalen Tubulus hemmt, so daß der $Na^+ - K^+$ - Austausch in diesem Teil des Nephron nicht unbehindert ablaufen kann. Durch Untersuchungen mit gleichzeitiger Verabreichung des Antimetaboliten 6-Aminonicotinsäureamid und Furosemid ließ sich nämlich auch ein distaler Angriffspunkt des Anthranilsäurederivats nachweisen (HERKEN, 1969).

Amilorid bewirkt eine leichte Natrium-Mehrausscheidung und eine Kalium-Retention, ohne auf die Gegenwart von Aldosteron angewiesen zu sein. Es soll keinen Einfluß auf die cortico-medullären Natrium- und Harnstoffgradienten haben und seine Wirkung nach Ansicht einiger Autoren durch Beeinflussung der Permeabilität der luminalen Seite des distalen Tubulus entfalten (BAER et al., 1967, EIGLER et al., 1967, CRABBÉ 1968 a, b, BABA et al., 1968).

In unseren Versuchen war Amilorid bezüglich der Natrium-Exkretion nach Folsäuregabe ebenso wirksam wie bei Normaltieren (Tab. 12, Abb. 8); die Kalium-Retention war jedoch noch ausgeprägter als bei den Kontrollen. Da Amilorid weiter distal als die vorher genannten Diuretika angreift, und die Kalium-Retention bei Folsäure-behandelten Tieren ausgeprägter als bei den Kontrollen ist, ließe sich folgern, daß die zum Zeitpunkt unserer Versuche bestehende Kalium-Mehrausscheidung gegenüber Normaltieren (Tab. 7) von einer verstärkten distalen Kalium-Sekretion herrührt. Wäre die Kalium-Mehrausscheidung der Folsäure-Tiere eine Folge verminderter proximaler K^+ - Rückresorption, dann müßte Amilorid bei den Kontrollen zu einer stärkeren Kalium-Retention führen als bei den Folsäure-Tieren. Demnach ist zu vermuten, daß die proximale Kalium-Rückresorption bei den mit Folsäure vorbehandelten Ratten trotz der morphologisch bekannten Schäden des proximalen Tubulus weitgehend intakt ist.

Für eine Beeinträchtigung der Carboanhydratase fanden wir keinen Hinweis. Eine Alkalisierung des Urins der Folsäure-Tiere ließ sich nicht nachweisen.

Triamteren wirkt qualitativ gleichartig wie das Pyrazincarboxamid, hat jedoch in seinem Natrium-eliminierenden Effekt nur 1/5 der Wirksamkeit von Amilorid (HERKEN, 1969). Es soll nach Ansicht der meisten Autoren die Kalium-Exkretion im letzten Teil des distalen Tubulus herabsetzen (SENFT 1962, HERKEN, SENFT, ZEMISCH 1964, WIEBELHAUS et al., 1965, MAASS und WIEBELHAUS, 1966, CRABBÉ 1968a). Bezüglich der Natrium-Ausscheidung wird aufgrund der Unwirksamkeit des Triamterens nach 6-Amino-nicotinsäureamid-Vorbehandlung ein distaler Angriff vermutet (HERKEN, SENFT, ZEMISCH, 1964), andererseits jedoch auch ein Einfluß auf den Natrium-Transport im letzten Teil des proximalen Tubulus angenommen (MAASS und WIEBELHAUS, 1966).

Wir fanden bei den mit Folsäure vorbehandelten Ratten in den beiden ersten Stunden nach Triamteren-Applikation die gleiche Kalium-Retention wie bei den Kontrollen; in der 3. - 4. Stunde fanden wir sie gegenüber den Kontrolltieren leicht erhöht. Wie bei der Amilorid-Wirkung ließe sich aus diesem Befund schließen, daß der distale Tubulus funktionstüchtig geblieben ist, und daß die Kalium-Mehrausscheidung der Folsäure-vorbehandelten Tiere von einer verstärkten distalen Kalium-Sekretion herrührt. Die nach Triamteren gegenüber den Kontrolltieren herabgesetzte Natrium-Elimination der Folsäure-vorbehandelten Ratten kann man am ehesten durch eine schwächere Rückresorptionshemmung im proximalen Tubulus erklären.

E. Urinkonzentrationsvermögen

Das herabgesetzte Konzentrierungsvermögen der Folsäure-behandelten Tiere stimmt mit den Befunden, die 3 Tage nach Injektion von $K_2Cr_2O_7$ und $HgCl_2$ von BIBER et al. (1968) erhoben wurden, überein. Die Autoren fanden eine erniedrigte Urinosmolarität und lokalisierten mit Hilfe der Mikropunktionstechnik im proximalen Tubulus eine wesentlich herabgesetzte Wasser-Reabsorption. Auch histologisch fanden sie diesen Teil des Tubulus geschädigt. Der Anteil des Glomerulumfiltrats, der erst in den distaleren Abschnitten des Tubulus geschädigt ist, läßt sich die gleiche Ursache für das mangelhafte Konzentrationsvermögen vermuten.

Zu berücksichtigen ist jedoch auch der Kalium-Mangel der Tiere, denn ein diätetisch erzeugter Kalium-Mangel verursacht ebenfalls eine Poly- und Hyposthenurie, die sich auch durch Vasopressingabe nicht beeinflussen läßt (HOLLANDER et a., 1957, SENFT und NATZSCHKA 1959, LÜBBEMEIER et al., 1967). Möglicherweise tragen beide Befunde, die Schädigung des proximalen Tubulus und die durch das Kalium-Defizit herabgesetzte Ansprechbarkeit auf Vasopressin, zum Zustandekommen des geringeren Konzentrationsvermögens bei.

Zusammenfassung

An männlichen Ratten wurde der nierenvergrößernde Effekt verschiedener Verbindungen geprüft. 500 mg/kg Folsäure erzeugte innerhalb von 4 Tagen eine deutliche Zunahme des Nierenfeucht- und Nierentrockengewichts. Für diese Wirkung ist der Pteridinbaustein des Folsäuremoleküls verantwortlich. Außerdem verursachten Xanthopterin, 2,4,5-Triamino-6-styrylpyrimidin und in geringem Umfang Sublimat eine Zunahme des Nierengewichts.

Die Natrium- und Kalium-Konzentration des Serums war 4 Tage nach Folsäure-Applikation erniedrigt. Die Konzentrationen von Kalium im Intrazellulärraum der Leber und in der Skeletmuskulatur waren ebenfalls herabgesetzt. Die intrazelluläre Natrium-Konzentration des Muskels war erhöht. Die Elektrolyt-Veränderungen im Gewebe werden mit der Gewichtsabnahme nach der Folsäure-Injektion in Zusammenhang gebracht.

Mit Hilfe von Diuretika wurde versucht, die durch Folsäure erzeugten renalen Schäden zu lokalisieren. Furosemid und Chlorothiazid erwiesen sich bei Folsäure-vorbehandelten Tieren als nicht so wirksam wie bei Normaltieren. Amilorid erzeugte nach Folsäurevorbehandlung eine stärkere Kalium-Retention bei gleich starker Beeinflussung der Natrium-Elimination. Triamteren bewirkte eine stärkere Kalium-Retention und eine schwächere Natrium-Ausscheidung als bei den Kontrollen.

Das Konzentrierungsvermögen der Nieren nach Folsäure-Vorbehandlung war herabgesetzt.

Die Untersuchungen über die Wirksamkeit verschiedener Diuretika 4 Tage nach Applikation hoher Folsäure-Dosen lassen auf Funktionsstörungen im proximalen Teil des Nephron schließen.

Literaturverzeichnis

ADDIS,T., E.M.MACKAY, and L.L.MACKAY — The Effect on the Kidney of the Long Continued Administration of Diets Containing an Excess of Certain Food Elements. J. Biol. Chem. 71, 139 (1926)

BABA,W.I., A.F.LANT, A.J.SMITH, M.M.TOWNSHEND, and G.M.WILSON — Pharmacological Effects in Animals and Normal Subjects of the Diuretic Amiloride Hydrochloride (MK 870). Clin.Pharmacol.Therap. 9, 318 (1968)

BAER,J.E., C.B.JONES, S.A.SPITZER, and H.F.RUSSO — The Potassium-Sparing and Natriuretic Activity of N-Amidino-3,5-Diamino-6-Chloro-pyrazinecarboxamide Hydrochloride Dihydrate (Amiloride Hydrochloride). J. Pharmacol.Exp. Therap. 157, 472 (1967)

BASERGA,R., D.THATCHER, and D.MARZI — Cell Proliferation in Mouse Kidney after a Single Injection of Folic Acid. Lab. Invest. 19, 92 (1968)

BERLINER,R.W., KENNEDY,T.J.jr., and J.G.HILTON — Renal Mechanismus for Excretion of Potassium. Amer. J.Physiol.162, 348 (1950)

BIBER,T.U.L., M.MYLLE, A.BAINES, C.W.GOTTSCHALK, J.OLIVER, and M.C.MACDOWELL — A Study by Micropuncture and Microdissection of Acute Renal Damage in Rats. Amer.J.Med. 44, 664 (1968)

BRADE,W., H.HERKEN und H.J.MERKER, unter Mitarbeit von W.DRESCHER — Funktionsstörung und Stimulation des Wachstums der Niere durch Folsäure in hoher Dosierung. Klin.Wschr. 46, 1232 (1968)

BRADE,W., H.HERKEN und H.J.MERKER, unter Mitarbeit von W.DRESCHER — Schädigung und Regeneration renaler Tubuluszellen nach Folsäuregabe. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.Pharmak. 262, 228 (1969)

BRATTON,A.C., and E.K.MARSHALL jr. — A New Coupling Component for Sulfanilamide Determination. J.Biol.Chem. 128, 537 (1939)

CRABBÉ,J. — A Hypothesis Concerning the Mode of Action of Amiloride and of Triamterene
Arch.Int.Pharmacodyn. 173, 474 (1968a)

CRABBÉ,J., and E.N.EHRLICH — Amiloride and the Mode of Action of Aldosterone on Sodium Transport across Toad Bladder and Skin
Pflügers Arch. ges. Physiol. 304, 284 (1968b)

DEETJEN,P. — Mikropunktionsuntersuchungen zur Wirkung von Furosemid
Pflügers Arch. ges. Physiol. 284, 184 (1965)

DEETJEN,P. — Micropuncture Studies of Diuretics in Rats
Proc.3rd int.Congr.Nephrol. Washington 1966, p.250
Karger, Basel/New York 1967

DRESCHER,W. — Inauguraldissertation an der Med.Fak. der Freien Universität Berlin
In Vorbereitung 1969

DULCE,H.J. und Th.GÜNTHER — Steuerung des cellulären Elektrolyt- und Wassergehaltes durch Hormone
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 238, 368 (1960)

EIGLER,J., J.KELTER und E.RENNER — Wirkungscharakteristika eines neuen Acylguanidins-Amilorid-HCl (MK 870) an der isolierten Haut von Amphibien
Klin.Wschr. 45, 737 (1967)

FLANIGAN,W.J., and D.E.OKEN — Renal Micropuncture Study of the Development of Anuria in the Rat with Mercury-induced Acute Renal Failure
J.Clin.Invest. 44, 449 (1965)

FÜHR,J., J.KACZMARCZYK und C.D.KRÜTTGEN — Eine einfache colorimetrische Methode zur Inulinbestimmung für Nieren-Clearance-Untersuchungen bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern
Klin.Wschr. 33, 729 (1955)

GAYER,J. Die renale Exkretion des neuen Diureticum Furosemid Klin.Wschr. 43, 898 (1965)

GIEBISCH,G., KLOSE,R.M., and G.MALNIC Renal Tubular Potassium Transport Bull.schweiz.Akad.med.Wiss. 23, 287 (1967)

GORESKY,C.A., H.WATANABE, and D.JOHNS The Renal Excretion of Folic Acid J.Clin.Invest.42, 1841 (1963)

HADDOW,A. in: Ciba Foundation Symposion on Chemistry and Biology of Pteridines p. 100.London:Churchill 1954

HENRY,L.N., C.E.LANE, and M.KASHGARIAN Micropuncture Studies of the Pathophysiology of Acute Renal Failure in the Rat Lab.Invest. 19, 309 (1968)

HERKEN,H. Pseudo-Antialdosterone in: Handbuch Pharmakologie XXIV, 1969, S. 494-549, in Vorbereitung

HERKEN,H., G.GELFT, W.SCHWARZ und H.J.MERKER Struktur und Funktion der Glomerula nach Einwirkung von Glucocorticoiden bei der Aminonucleosidnephrose Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.Pharmak. 245, 289 (1963)

HERKEN,H., G.GELFT und B.ZENISCH Die Einschränkung des tubulären Natrium- und Kaliumtransportes durch Biosynthese 6-Aminonicotinsäureamid enthaltender Nucleotide Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp. Path.Pharmak. 249, 54 (1964)

HOLLANDER,W.jr., R.J.WINTERS, T.F.WILLIAMS, J.BRADLEY, J.OLIVER, and L.G.WELT Defect of the Renal Tubular Reabsorption of Water Associated with Potassium Depletion in Rats Amer.J.Physiol.189, 557 (1957)

HOLZGREVE,H. Hemmung der lokalen prozentualen Resorption im proximalen Konvolut der Rattenniere nach Gabe von Diuretica Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.Pharmak. 260, 146 (1968)

KAESS,H., G.SENFT, W.LOSERT, R.SITT und G.SCHULTZ
Mechanismus der gesteigerten glykogenolytischen Wirkung des Diazoxids im Kaliummangel
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.Pharmak. 253, 395 (1966)

KATZ,A.J., D.R.HOLLINGSWORTH, and F.H.EPSTEIN
Influence of Carbohydrate and Protein on Sodium Excretion during Fasting and Refeeding
J.Lab.Clin.Med. 72, 93 (1968)

KESSLER,R.H., K.HIERHOLZER, R.S.GURD, and R.F.PITTS
Localization of Action of Chlorothiazide in the Nephron of the Dog
Amer.J.Physiol. 196, 1346 (1959)

LÜBBEMEIER,A., H.K.BARTELHEIMER und G.SENFT
Der Einfluß eines Kaliummangels auf die renale Wirkung verschiedener Diuretica
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 258, 409 (1967)

MAASS,A.R. und V.D.WIEBELHAUS
Die biologischen und diuretischen Eigenschaften von Triamteren
in:"Therapie mit Triamteren", Wiener Symposion über Triamteren 1966
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1967

MAYRS,E.B. and J.M.WATT
Renal Blood Flow and Glomerular Filtration
J.Physiol. 56, 120 (1922)

MENG, K.
Mikropunktionsuntersuchungen über die saluretische Wirkung von Hydrochlorothiazid, Acetazolamid und Furosemid
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 257, 355 (1967)

NOLTENIUS,H. und H.SCHELLHAS
Hyperplasie und Regeneration des Nierenparenchyms nach Nephrektomie und Sublimatvergiftung
Klin.Wschr. 41, 520 (1963)

PETERS,G. — Glomeruläre Clearancen, p-Amino-hippursäure-Clearance und Diurese bei verschiedenen Diureseformen der nicht narkotisierten Ratte
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 235, 113 (1959)

PÄTAU,K. — Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (Eine neue t-Tafel)
Biol. Zbl. 63, 154 (1943)

REUBI,F.C. and P.T.COTTIER — Effects of Reduced Glomerular Filtration Rate on Responsiveness to Chlorothiazide and Mercurial Diuretics
Circulation 23, 200 (1961)

SELDIN,D.W., G.EKNOYAN, W.SUKI, and F.C.RECTOR jr. — The Physiology of Modern Diuretics
Proc. 3rd int.Congr.Nephrol., Washington 1966, p.240
Karger, Basel/New York 1967

SENFT,G. — Über den Mechanismus und die Lokalisation der renalen Wirkung von 2,4,7-Triamino-6-phenyl-pteridin
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 243, 352 (1962)

SENFT,G. — Membrantransport und Pharmaka
in: 3.Symposion für Nephrologie (1964). Normale und pathologische Funktionen des Nierentubulus, herausgegeben von K.J.Ullrich und K.Hierholzer
Hans Huber, Bern u.Stuttgart

SENFT,G., W.LOSERT und A.LÜBBEMEIER — Nachweis der Natrium-eliminierenden Wirkung von Etacrynsäure bei der Ratte
Arzneim.-Forsch. 18, 563(1968)

SENFT,G. und J.NATZSCHKA — Der Einfluß eines Kaliumdefizits auf die antidiuretische Wirkung von Vasopressin
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 237, 344 (1959)

SMITH,H.W. — The Kidney
London: Oxford University Press 1951

TARAIL,R., and J.R.ELKINTON — Potassium Deficiency and the Role of the Kidney in its Production J.Clin.Invest. 28, 99 (1949)

TAYLOR,D.M., G.THRELFALL, and A.T.BUCK — Stimulation of Renal Growth in the Rat by Folic Acid Nature, 212, 472 (1966)

TAYLOR,D.M., G.THRELFALL, and A.T.BUCK — Chemically-induced Renal Hypertrophy in the Rat Biochem. Pharmakol. 17, 1567 (1968)

THRELFALL,G., D.M.TAYLOR, and A.T.BUCK — The Effect of Folic Acid on Growth and Desoxyribonucleic Acid Synthesis in the Rat Kidney Lab.Invest. 15, 1477 (1966)

THRELFALL,G., D.M.TAYLOR, P.MANDEL, and M.RAMUZ — Metabolism of Nuclear RNA in the Rat Kidney after Injection of Folic Acid Nature 215, 755 (1967)

THURAU,K. und J.SCHNERMANN — Die Natriumkonzentration an den Macula-densa-Zellen als regulierender Faktor für das Glomerulumfiltrat (Mikropunktionsversuche) Klin.Wschr. 43, 410 (1965)

VANDER,A.J., R.L.MALVIN, W.S.WILDE, and L.P.SULLIVAN — Localization of the Site of Action of Chlorothiazide by Stop-Flow Analysis J.Pharmacol Exp.Therap. 125, 19 (1959)

WAHLER,B.E. — Bestimmung von 2-20 γ Inulin in tierischem Gewebe Hoppe-Seylers Zschr.physiol. Chem. 306, 84 (1956)

WIEBELHAUS,V.D., J.WEINSTOCK, A.R.MAASS, F.T.BRENNAN,G.SOSNOWSKI, and T.LARSEN — The Diuretic and Natriuretic Activity of Triamterene and Several Related Pteridines in the Rat J.Pharmacol. Exp. Therap. 149, 397 (1965)

Herrn Professor Dr. med. H. Herken und
Herrn Dr. med. W. Brade danke ich für die
Anleitung zu den Experimenten, viele
klärende Diskussionen und Anregungen sowie
für die Mühe bei der Durchsicht der Arbeit.

Lebenslauf

Am 21. Dezember 1942 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. med. Jürgen Propping und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Meyer, in Berlin geboren. Seit April 1945 ist mein Vater im Osten vermißt.
1943 siedelte meine Mutter mit mir nach Rügen über, bis wir 1951 nach Berlin zurückkehrten. Nach der Grundschule besuchte ich die Schiller-Schule in Charlottenburg, an der ich 1962 die Reifeprüfung ablegte. Seit dem Sommersemester 1962 studierte ich an der Freien Universität Berlin Medizin und bestand hier die naturwissenschaftliche Vorprüfung im Frühjahr 1963, die ärztliche Vorprüfung im Herbst 1964. Im Februar 1968 beendete ich mein Studium mit der ärztlichen Prüfung. Meine Dissertation fertigte ich als Medizinalassistent seit Mai 1968 am Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin an. Von März bis Juni 1969 war ich Medizinalassistent in der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Neukölln und begann meine internistische Ausbildung im Juli 1969 an der II. Inneren Klinik des Städtischen Krankenhauses Spandau. Diese Tätigkeit muß ich zur Zeit wegen Erkrankung an einer epidemischen Hepatitis unterbrechen.